

## WO0191632

Publication Title:

METHOD AND DEVICE FOR DETECTING SUBSTANCES IN BODY FLUIDS  
BY RAMAN SPECTROSCOPY

Abstract:

1453 Abstract of WO0191632

The invention relates to a method and to a device for the non-invasive detection or determination, by Raman spectroscopy, of the concentration of substances in body fluids. The aim of the invention is to facilitate a non-invasive in vivo detection of substances in body fluids that allows for very accurate, reproducible results of analysis while requiring only little time for measuring which is acceptable for the patient. To this end, the inventive method and device for carrying out a Raman spectroscopy of a body fluid in a body tissue (1) records at least two Raman spectrums under different physical conditions and compares them with each other. The result of comparison allows detection of the substance one is looking for and measurement of the concentration of said substance.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

-----  
Courtesy of <http://v3.espacenet.com>

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
6. Dezember 2001 (06.12.2001)

PCT

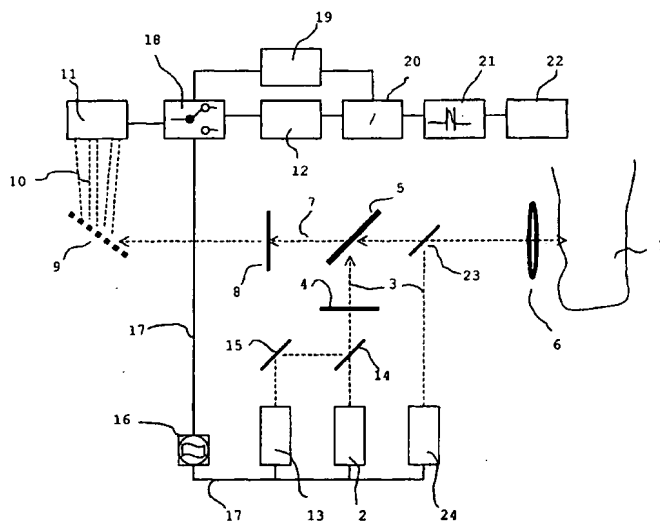
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 01/91632 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: A61B 5/00, G01N 21/65 (74) Anwalt: HABENICHT, Wieland; Orffstrasse 6, 80634 München (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE01/02068 (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (22) Internationales Anmeldedatum: 31. Mai 2001 (31.05.2001)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 100 27 100.6 31. Mai 2000 (31.05.2000) DE
- (71) Anmelder und  
(72) Erfinder: MÜLLER-DETHLEFS, Klaus [DE/GB]; 14 New Walk Terrace, York, Yorkshire YO10 4BG (GB).
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR DETECTING SUBSTANCES IN BODY FLUIDS BY RAMAN SPECTROSCOPY

(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUM NACHWEISEN VON SUBSTANZEN IN KÖRPERFLÜSSIGKEITEN MITTELS RAMAN-SPEKTROSKOPIE



(57) Abstract: The invention relates to a method and to a device for the non-invasive detection or determination, by Raman spectroscopy, of the concentration of substances in body fluids. The aim of the invention is to facilitate a non-invasive in vivo detection of substances in body fluids that allows for very accurate, reproducible results of analysis while requiring only little time for measuring which is acceptable for the patient. To this end, the inventive method and device for carrying out a Raman spectroscopy of a body fluid in a body tissue (1) records at least two Raman spectrums under different physical conditions and compares them with each other. The result of comparison allows detection of the substance one is looking for and measurement of the concentration of said substance.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 01/91632 A1

**Veröffentlicht:**

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

---

**(57) Zusammenfassung:** Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zum nicht-invasiven Nachweis bzw. Bestimmen der Konzentration von Substanzen in Körperflüssigkeiten mit Raman-Spektroskopie. Um einen nicht-invasiven in vivo Nachweis von Substanzen in Körperflüssigkeiten mit sehr guter reproduzierbarer Analysegenauigkeit bei einer für den Patienten akzeptablen, kurzen Messdauer zu ermöglichen, wird ein Verfahren und eine Vorrichtung zum Durchführen einer Raman-Spektroskopie bei einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe (1) vorgeschlagen, wobei mindestens zwei Raman-Spektren unter unterschiedlichen physikalischen Bedingungen aufgenommen werden und miteinander verglichen werden. Das Vergleichsergebnis ist ein Nachweis der gesuchten Substanz bzw. ein Maß für die Konzentration der gesuchten Substanz.

VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUM NACHWEISEN VON SUBSTANZEN IN KÖRPERFLÜSSIGKEITEN  
MITTELS RAMAN-SPEKTROSKOPIE

Die Erfindung betrifft Verfahren und Vorrichtungen zum nicht-invasiven Bestimmen der Konzentration und Nachweisen von Substanzen in Körperflüssigkeiten mit Raman- Spektroskopie. Insbesondere betrifft die Erfindung den Nachweis und die Konzentrationsbestimmung von Glukose, Cholesterin, Laktat oder dergleichen im Blut des Menschen.

Zum Nachweis von im Blut eines Patienten gelösten Stoffen wird in den meisten Fällen dem Patienten Blut abgenommen und anschließend analysiert. Solange diese Blutuntersuchung nur einmal oder in zeitlich relativ großen Abständen und durch entsprechend geschultes Personal ambulant erfolgt, bedeutet dies für den Patienten keine übermäßig große Belastung. Ist jedoch eine häufige, in regelmäßigen Abständen wiederkehrende Untersuchung des Blutes erforderlich, wie dies bei Diabetes- Patienten der Fall ist, so ist eine häufige Blutabnahme dem Patienten in einer Klinik oder einer Arztpraxis nicht zuzumuten. Daher wurden sogenannte "home monitoring"- Verfahren entwickelt, mit denen sich der Patient selbst kontrollieren kann; und zwar zeitlich wie räumlich unabhängig. Dies setzt jedoch voraus, dass der Patient immer sein dazu erforderliches Besteck mit sich führt. Der generelle Nachteil bei diesen Verfahren ist, dass eine Blutabnahme jedesmal mit einem - wenn auch sehr geringen - Infektionsrisiko behaftet ist. Wenn daher die entsprechenden Geräte (Spritzen etc.) nicht oder nicht steril verfügbar sind, ist eine Blutuntersuchung nicht möglich. Mit noch größeren Schwierigkeiten verbunden ist die Blutuntersuchung mit Blutabnahme bei hämophil veranlagten Patienten. In jedem Fall bedeutet die Analyse der Blutwerte mit Blutabnahme für den Patienten einen mehr oder minder schmerzhaften Eingriff und einen Aufwand, dem er selbst nicht immer und ohne weiteres gewachsen ist.

Das in einer Klinik oder Arztpraxis ambulant abgenommene Blut muss in einem Labor (nass- ) chemisch untersucht werden. Bei den "home monitoring"- Verfahren hat der Patient dagegen eine trockenchemische Ausrüstung (Minilabor), häufig in Form von  
5 Teststreifen etc., meistens mit der Blutabnahme in einem Gerät integriert, so dass sich die Bearbeitung in einem eigens dafür eingerichteten Labor erübrigt. Der Nachteil jeder chemischen Untersuchung besteht jedoch in den hohen Anforderungen, die an Sauberkeit und Dosiergenauigkeit gestellt werden müssen. Außer-  
10 dem besteht bei allen in vitro Verfahren die Gefahr, dass Blut und/oder Chemikalien in die Umgebung gelangen und damit u. U. auch Krankheitserreger verbreitet werden können.

Die für den Patienten notwendige Blutentnahme, oft mehrmals  
15 am Tag, stellt eine große Belastung für den Patienten dar, sowohl gesundheitlich und psychisch als auch durch die Einschränkung seiner Mobilität.

Aus diesem Grunde wurden Methoden entwickelt, die eine Unter-  
20 suchung des Patientenblutes in vivo ohne Abnahme von Blut ermöglichen und die die Angabe des Ergebnisses ohne nennenswerte Zeitverzögerung - was sich bei der chemischen Analyse nicht vermeiden lässt - zulassen. Insbesondere wurden Verfahren zur Bestimmung der Konzentration von medizinisch relevanten Stoffen  
25 in der Körperflüssigkeit eines Patienten beschrieben, die auf den durch die nachzuweisenden Stoffe veränderten physikalischen Eigenschaften von Licht beruhen.

Aus DE- A- 195 18 511 ist ein Verfahren für die transcutane,  
30 unblutige Konzentrationsbestimmung von Substanzen im Blut des Menschen bekannt. Bei der transcutanen, unblutigen in- vivo- Konzentrationsbestimmung von im Patientenblut zu bestimmenden Substanzen wie Glucose, Lactat Blutzucker, Cholesterin, Alkohol, Drogen oder dergleichen wird ein der Menge einer Substanz  
35 und der Wassermenge einer gegebenen Körperregion entsprechendes Signal, das mittels spektroskopischer Methoden erzeugt wird, gemessen, die Konzentration im Wasser durch Verhältnisbildung des Signalwertes der Substanz- und Wassermenge ermittelt und hieraus der Blutkonzentrationswert errechnet. Insbesondere wird

als spektroskopische Methode die Kernspinresonanzspektroskopie und neben anderen spektroskopischen Methoden in allgemeinem Zusammenhang auch die Raman- Spektroskopie genannt.

- 5      Einer Anwendung der Raman- Spektroskopie zur Konzentrations-  
messung von Substanzen in Gewebeflüssigkeiten stehen jedoch  
schwerwiegende Probleme entgegen. Die Intensität der Raman-  
Streuung ist nur klein und generell gegenüber der Rayleigh-  
streuung um einige Größenordnungen geringer. Für menschliches  
10 Gewebe kann die Rayleighstreuung (unter der hier alle Streupro-  
zesse, die die gestreute Wellenlänge nicht verändern, zusammen-  
gefasst werden, also auch die Partikelstreuung) wegen der inho-  
mogenen und opaken Eigenschaften des Mediums sogar um etwa 10  
Größenordnungen größer als die Raman- Streuung sein. Diese  
15 starke Rayleighstreuung "blendet" bekannte Detektionssysteme im  
Bereich der wellenlängenverschobenen Raman- Streuung. Neben der  
Rayleighstreuung kann in menschlichem Gewebe je nach Anregungs-  
wellenlänge auch unerwünschte Fluoreszenz oder andere störende  
Lichtemission auftreten, die die Raman- Signale überdeckt. Ein  
20 weiteres Problem ergibt sich aus der spektralen Überlagerung  
von Raman- Signalen verschiedener anderer Substanzen mit dem  
Signal der nachzuweisenden Substanz. Aufgrund der komplexen Zu-  
sammensetzung des Mediums ergeben sich Störsignale die wesent-  
lich größer als die Messsignale für die nachzuweisende Substanz  
25 sein können.

Aus DE 691 21 589 T2 ist ein nicht- invasives Verfahren zur  
Messung der Konzentration von D- Glucose im Augenkammerwasser mit  
Raman- Spektroskopie sowie eine Vorrichtung dafür bekannt.

30

Aus DE 195 38 372 A1 ist ein Verfahren und eine Vorrichtung e-  
benfalls für eine nicht- invasive Glukosemessung im Auge mit Ra-  
man- Spektroskopie bekannt.

- 35      Aus DE 692 19 580 T2 ist die Bestimmung der Zusammensetzung  
und der Konzentration eines arbiträren Gasgemisches in dem  
Luftweg eines Patienten mittels Raman- Spektroskopie bekannt.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, Verfahren und Vorrichtungen zum nicht- invasiven Nachweis von Substanzen in Körperflüssigkeiten zu schaffen, womit sich bei sehr guter Analysegenauigkeit eine für den Patienten akzeptable kurze Messdauer einhalten lässt.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß durch Verfahren gemäß Anspruch 1, 2 bzw. 3 und durch Vorrichtungen gemäß Anspruch 18, 19 bzw. 20 gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung sind Gegenstand der jeweiligen Unteransprüche.

Der Erfindung liegt das Prinzip zugrunde, die Raman- Streuung von Primärlicht an einer nachzuweisenden Substanz zu nutzen, um ein mit der Konzentration der nachzuweisenden Substanz korreliertes Signal zu erhalten. Um Störungen der Messung des Raman-Signals der nachzuweisenden Substanz auszuschließen oder wenigstens zu minimieren, wird erfindungsgemäß das Wellenlängenspektrum des Sekundärlichtes im Bereich des Raman- Spektrums der nachzuweisenden Substanz für zwei verschiedene Primärlichtwellenlängen aufgenommen. Nach Erkenntnis des Erfinders ist das Raman- Spektrum der nachzuweisenden Substanz entsprechend der unterschiedlichen Primärlichtwellenlänge verschoben, das Raman- Spektrum des Körpergewebes für beide Primärlichtwellenlängen aber weitestgehend identisch. Durch Vergleich der Raman- Spektren bei der ersten und bei der zweiten Primärlichtwellenlänge lässt sich das Hintergrundsignal des Körpergewebes eliminieren und ein Signal gewinnen, welches proportional zu der Konzentration der nachzuweisenden Substanz ist.

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zum nicht- invasiven Bestimmen einer Konzentration einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe mit Raman- Spektroskopie, das die Schritte umfasst: a) Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht einer ersten Wellenlänge  $\lambda_1$  in das Körpergewebe, b) Erfassen von Sekundärlicht, das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, und Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman- Spektralsignal bei der ersten Wellenlänge in einem ersten Speicher, c) Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht einer zweiten

- Wellenlänge  $\lambda_2$  in das Körpergewebe, d) Erfassen von Sekundärlicht, das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, und Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als zweites Raman- Spektralsignal bei der zweiten Wellenlänge in einem zweiten Speicher, e) Vergleichen des ersten Raman- Spektralsignals in dem ersten Speicher und des zweiten Raman- Spektralsignals in dem zweiten Speicher miteinander und Erzeugen eines Vergleichssignals, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind, f) Bestimmen einer Intensität des Vergleichssignals bei wenigstens einer Abfragewellenlänge  $\lambda_3$ , wobei die Intensität der Konzentration der Substanz in der Körperflüssigkeit entspricht.
- Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zum nicht- invasiven Bestimmen einer Konzentration einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe mit Raman- Spektroskopie, das die Schritte umfasst: a) Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht einer vorgegebenen Wellenlänge  $\lambda$  in das Körpergewebe bei einer ersten Temperatur, b) Erfassen von Sekundärlicht, das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, und Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman- Spektralsignal bei der ersten Temperatur in einem ersten Speicher, c) Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht der vorgegebenen Wellenlänge  $\lambda$  in das Körpergewebe bei einer zweiten Temperatur, d) Erfassen von Sekundärlicht, das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, und Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als zweites Raman- Spektralsignal bei der zweiten Temperatur in einem zweiten Speicher, e) Vergleichen des ersten Raman- Spektralsignals in dem ersten Speicher und des zweiten Raman- Spektralsignals in dem zweiten Speicher miteinander und Erzeugen eines Vergleichssignals, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind, f) Bestimmen einer Intensität des Vergleichssignals bei wenigstens einer Abfragewellenlänge  $\lambda_3$ , wobei die Intensität der Konzentration der Substanz in der Körperflüssigkeit entspricht.



Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zum nicht-invasiven Nachweis einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe mit Raman-Spektroskopie, das die Schritte umfasst: a) Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht einer ersten Wellenlänge  $\lambda_1$  in das Körpergewebe bei einer ersten Temperatur, b) Erfassen von Sekundärlicht, das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, und Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman-Spektralsignal bei der ersten Wellenlänge und bei der ersten Temperatur in einem ersten Speicher, c) Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht einer zweiten Wellenlänge  $\lambda_2$  in das Körpergewebe bei einer ersten Temperatur, d) Erfassen von Sekundärlicht, das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, und Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als zweites Raman-Spektralsignal bei der zweiten Wellenlänge und bei der ersten Temperatur in einem zweiten Speicher, e) Vergleichen des ersten Raman-Spektralsignals in dem ersten Speicher und des zweiten Raman-Spektralsignals in dem zweiten Speicher miteinander und Erzeugen eines ersten Vergleichssignals, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind, f) Bestimmen einer Intensität des ersten Vergleichssignals bei wenigstens einer Abfragewellenlänge  $\lambda_3$ , g) Wiederholen der Schritte a) bis f) bei einer zweiten Temperatur und Erzeugen eines zweiten Vergleichssignals bei der wenigstens einen Abfragewellenlänge  $\lambda_3$ , wobei die Intensität des Sekundärlichtes bei der ersten und der zweiten Wellenlänge in einem dritten Speicher bzw. einem vierten Speicher abgespeichert wird und ein zweites Vergleichssignal erzeugt wird, h) Vergleichen des ersten und des zweiten Vergleichssignals und Erzeugen eines Identifikationssignals in Abhängigkeit von dem Vergleichsergebnis bei der wenigstens einen Abfragewellenlänge  $\lambda_3$ .

Bevorzugte Ausführungsformen der Verfahren zeichnen sich dadurch aus, dass sie eines oder mehrere der folgenden Merkmale aufweisen:

das Primärlicht der ersten und/oder zweiten Wellenlänge wird mit einer vorgegebenen Frequenz eingestrahlt, und das erste und

das zweite Raman- Spektralsignal wird mit der vorgegebenen Frequenz aufgenommen;

die vorgegebene Frequenz liegt im Bereich von einigen Kilohertz;

5 die erste und die zweite Temperatur des Körpergewebes wird mit einer vorgegebenen Frequenz eingestellt;

die vorgegebene Frequenz ist die Herzfrequenz;

das Primärlicht mit der ersten und/oder zweiten Wellenlänge weist eine Pulslänge im Pikosekundenbereich auf;

10 das Primärlicht wird durch einen Laser erzeugt;

das Sekundärlicht wird im Stokes- Bereich und/oder Anti- Stokes- Bereich des Raman- Spektrums erfasst;

die Wellenlängen  $\lambda_1$  und  $\lambda_2$  des Primärlichts liegen zwischen 750nm und 850nm;

15 der Absolutwert der Differenz zwischen der Wellenlänge  $\lambda_1$  bzw.  $\lambda_2$  des Primärlichts und der Abfragewellenlänge  $\lambda_3$  ist kleiner als 250meV ( $2000\text{cm}^{-1}$ );

der Absolutwert der Differenz zwischen der Wellenlänge  $\lambda_1$  bzw.  $\lambda_2$  des Primärlichts und der Abfragewellenlänge  $\lambda_3$  ist größer als

20 2,5meV ( $20\text{cm}^{-1}$ );

mindestens ein notch- Filter wird zum Eliminieren von Rayleigh- Streuung verwendet;

mit dem Primärlicht wird im wesentlichen zeitgleich ein Anregungslicht mit einer Wellenlänge  $\lambda_{\text{Anr}}$  in das Körpergewebe eingestrahlt, die von der Substanz absorbiert wird;

25 strahlt, die von der Substanz absorbiert wird;

die Wellenlänge  $\lambda_{\text{Anr}}$  des Anregungslichtes liegt zwischen 1,2 $\mu\text{m}$  und 3 $\mu\text{m}$ .

Für die Durchführung der Verfahren werden erfindungsgemäß die  
30 folgenden Vorrichtungen geschaffen.

Eine erste Vorrichtung zum nicht- invasiven Bestimmen einer Konzentration einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe mit Raman- Spektroskopie ist ausgestattet  
35 mit: a) einer ersten Lichtquelle zum Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht einer ersten Wellenlänge  $\lambda_1$  in das Körpergewebe, b) einer Photodetektoreinrichtung zum Erfassen von Sekundärlicht, das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, c) einem ersten Speicher zum Abspeichern der Intensität  
40 des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als

därlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman-Spektralsignal bei der ersten Wellenlänge  $\lambda_1$ , d) einer zweiten Lichtquelle zum Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht einer zweiten Wellenlänge  $\lambda_2$  in das Körpergewebe, e) einem zweiten Speicher zum Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als zweites Raman-Spektralsignal bei der zweiten Wellenlänge  $\lambda_2$ , f) einer Komparator-einrichtung zum Vergleichen des ersten Raman-Spektralsignals in dem ersten Speicher und des zweiten Raman-Spektralsignals in dem zweiten Speicher miteinander und zum Erzeugen eines Vergleichssignals, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind, g) einer Diskriminatoreinheit zum Bestimmen einer Intensität des Vergleichssignals bei wenigstens einer Abfragewellenlänge  $\lambda_3$ , wobei die Intensität der Konzentration der Substanz in der Körperflüssigkeit entspricht.

Eine alternative Vorrichtung zum nicht-invasiven Bestimmen einer Konzentration einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe mit Raman-Spektroskopie ist ausgestattet mit: a) einer Lichtquelle zum Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht einer vorgegebenen Wellenlänge  $\lambda$  in das Körpergewebe, b) einer Heizeinrichtung zum Einstellen einer ersten Temperatur und einer zweiten Temperatur in dem Körpergewebe, c) einer Photodetektoreinrichtung zum Erfassen von Sekundärlicht, das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, d) einem ersten Speicher zum Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman-Spektralsignal bei der ersten Temperatur und einem zweiten Speicher zum Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als zweites Raman-Spektralsignal bei der zweiten Temperatur, e) einer Kompartoreinrichtung zum Vergleichen des ersten Raman-Spektralsignals in dem ersten Speicher und des zweiten Raman-Spektralsignals in dem zweiten Speicher miteinander und zum Erzeugen eines Vergleichssignals, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind, f) einer Diskriminatoreinrichtung zum Bestimmen einer Intensität des Vergleichssignals bei wenigstens einer Abfragewellenlänge  $\lambda_3$ , wobei die

Intensität der Konzentration der Substanz in der Körperflüssigkeit entspricht.

- Eine weitere alternative Vorrichtung zum nicht- invasiven
- 5 Nachweis einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe mit Raman- Spektroskopie ist ausgestattet mit: a) einer ersten Lichtquelle zum Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht einer ersten Wellenlänge  $\lambda_1$  in das Körpergewebe, b) einer zweiten Lichtquelle zum Einstrahlen von monochromatischem
- 10 Primärlicht einer zweiten Wellenlänge  $\lambda_2$  in das Körpergewebe, c) einer Heizeinrichtung zum Einstellen einer ersten Temperatur und einer zweiten Temperatur in dem Körpergewebe, d) einer Photodetektoreinrichtung zum Erfassen von Sekundärlicht, das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, e) einem ersten Speicher
- 15 zum Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman- Spektralsignal bei der ersten Wellenlänge  $\lambda_1$  und bei der ersten Temperatur, einem zweiten Speicher zum Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als zweites Raman-
- 20 Spektralsignal bei der zweiten Wellenlänge  $\lambda_2$  und bei der ersten Temperatur, einem dritten Speicher zum Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als drittes Raman- Spektralsignal bei der ersten Wellenlänge  $\lambda_1$  und bei der zweiten Temperatur und einem vierten Speicher zum Ab-
- 25 speichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als viertes Raman- Spektralsignal bei der zweiten Wellenlänge  $\lambda_2$  und bei der zweiten Temperatur, f) einer ersten Komparatoreinrichtung zum Vergleichen des ersten Raman- Spektralsignals in dem ersten Speicher und des zweiten Raman-
- 30 Spektralsignals in dem zweiten Speicher miteinander und zum Erzeugen eines ersten Vergleichssignals, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind, g) einer zweiten Komparatoreinrichtung zum Vergleichen des dritten Raman- Spektralsignals in dem dritten Speicher und des vierten Raman- Spektralsignals in dem vierten Speicher miteinander und zum Erzeugen eines zweiten Vergleichssignals, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind, h) einer dritten Komparatoreinrichtung zum Vergleichen

chen des ersten Vergleichssignals und zweiten Vergleichssignals miteinander und zum Erzeugen eines dritten Vergleichssignals in Abhängigkeit von dem Vergleichsergebnis, i) einer Diskriminator-  
einrichtung zum Bestimmen einer Intensität des dritten Ver-  
gleichssignals bei wenigstens einer Abfragewellenlänge  $\lambda_3$ , j)  
5 einer Ausgabeeinheit zum Ausgeben eines Identifikationssignals in Abhängigkeit von der Intensität bei der wenigstens einen Ab-  
fragewellenlänge  $\lambda_3$ .

10 Bevorzugte Ausführungsformen der Vorrichtungen zeichnen sich dadurch aus, dass sie eines oder mehrere der folgenden Merkmale aufweisen:

die erste und/oder zweite Lichtquelle, die Photodetektorein-  
richtung und der erste bzw. dritte und/oder zweite bzw. vierte  
15 Speicher wird/werden mit einer vorgegebenen Frequenz gepulst;

die vorgegebene Frequenz liegt im Bereich von einigen Kilo-  
hertz;

die Heizvorrichtung zum Einstellen der ersten und zweiten  
Temperatur des Körpergewebes wird mit einer vorgegebenen Fre-  
20 quenz angesteuert;

eine Aufnahmevorrichtung ist zum Erfassen der Herzfrequenz  
vorgesehen und die vorgegebene Frequenz ist die Herzfrequenz;

die erste und/oder zweite Lichtquelle erzeugt Pulse mit einer  
Pulslänge im Pikosekundenbereich;

25 die erste und/oder zweite Lichtquelle ist ein Laser;

die erste und/oder zweite Lichtquelle erzeugt eine Wellenlän-  
ge  $\lambda_1$  bzw.  $\lambda_2$  des Primärlichtes zwischen 750nm und 850nm;

mindestens ein notch- Filter ist zum Eliminieren von Ray-  
leigh- Streuung zwischen der Abbildungsoptik und der Photode-  
30 tektoreinrichtung angeordnet;

eine dritte Lichtquelle ist zum Erzeugen von Anregungslicht  
mit einer Wellenlänge  $\lambda_{\text{Anr}}$ , die von der Substanz absorbiert  
wird, vorgesehen;

die dritte Lichtquelle erzeugt eine Wellenlänge  $\lambda_{\text{Anr}}$  zwischen  
35 1,2 $\mu\text{m}$  und 3 $\mu\text{m}$ ;

die dritte Lichtquelle ist ein Laser für die Erzeugung von  
Pikosekunden.

Einer von mehreren Vorteilen der erfindungsgemäßen Verfahren und Vorrichtungen besteht darin, dass eine zeitlich kontinuierliche statt einer nur diskreten Überwachung der Blutwerte möglich ist. Ferner wird die permanente Verletzung des Gewebes des Patienten durch die Blutabnahme und eine damit möglicherweise einhergehende Entzündung des Gewebes sowie gesteigerte Infektionsgefahr vermieden. Mit den erfindungsgemäßen selektiveren, größere Signalstärken produzierenden Verfahren und Vorrichtungen mit besserem Signalrauschverhältnis lassen sich sehr gute reproduzierbare Analysegenauigkeiten in kurzer Messdauer erzielen.

Weitere Vorteile, Merkmale und Anwendungsmöglichkeiten der vorliegenden Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung von Ausführungsbeispielen, bei der Bezug auf die beigefügten Zeichnungen genommen wird.

Fig. 1 zeigt eine Ausführungsform einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Durchführung des ersten erfindungsgemäßen Verfahrens.

Fig. 2 zeigt eine Ausführungsform einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Durchführung des zweiten erfindungsgemäßen Verfahrens.

Fig. 3 zeigt eine Ausführungsform einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Durchführung des dritten erfindungsgemäßen Verfahrens.

Fig. 4A, B und C zeigen ein erstes Spektralsignal bei einer ersten Primärlichtwellenlänge, ein zweites Spektralsignal bei einer zweiten Primärlichtwellenlänge bzw. das Differenzspektrum der beiden Spektralsignale in Fig. 4A und 4B.

Fig. 5A, B und C zeigen ein erstes Spektralsignal bei einer ersten Temperatur, ein zweites Spektralsignal bei einer zweiten Temperatur bzw. das Differenzspektrum der beiden Spektralsignale in Fig. 5A und 5B.

Die Figuren 1, 2 und 3 zeigen den optischen Aufbau nicht maßstabsgetreu.

In Fig. 1 ist eine Ausführungsform des erfindungsgemäßen Grundaufbaus für die Durchführung einer Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Verfahrens dargestellt. Die Vorrichtung zum nicht-invasiven Bestimmen einer Konzentration einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe 1 mit Raman-Spektroskopie umfasst eine erste Lichtquelle 2, die zum Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht 3 einer ersten Wellenlänge  $\lambda_1$  in das Körpergewebe 1 dient. Das Primärlicht 3 tritt durch ein erstes optisches Filter 4 hindurch, in dem eventuelles Restlicht mit einer anderen Wellenlänge als  $\lambda_1$  herausgefiltert wird. Dieses Bandpassfilter 4 ist daher insbesondere dann von Vorteil, wenn eine nicht-monochromatische Lichtquelle 2 verwendet wird. Das Primärlicht 3 trifft anschließend auf einen Auskoppelstrahlteiler 5, dessen Funktion weiter unten erläutert wird. Hinter dem Auskoppelstrahlteiler 5 ist eine Abbildungs- / Auffangoptik 6 angeordnet, die das Primärlicht 3 auf eine Stelle des Körpergewebes 1 abbildet. In der dargestellten Ausführungsform wird das Primärlicht 3 auf das Ohrläppchen eines Patienten fokussiert, das rechts in Fig. 1 angedeutet ist.

Das von dem Körpergewebe 1 zurückgestreute Sekundärlicht wird in der gezeigten Ausführungsform der Vorrichtung durch dieselbe Abbildungs- / Auffangoptik 6 aufgenommen. Dies ist besonders vorteilhaft, da nur eine Optik vorgesehen werden muss und quasi automatisch das Sekundärlicht exakt von derselben Stelle des Körpergewebes 1 kommt, die von dem Primärlicht 3 bestrahlt wird. Es ist jedoch auch möglich, die Abbildungsoptik für das Primärlicht 3 und die Auffangoptik für das Sekundärlicht unabhängig voneinander anzuordnen.

Das Sekundärlicht 7 breitet sich über einen kurzen Weg kollinear zu dem Primärlicht 3, aber in entgegengesetzter Richtung aus und tritt durch den Auskoppelstrahlteiler 5 hindurch. In dem Auskoppelstrahlteiler 5 wird das Sekundärlicht von dem Ausbreitungsweg des Primärlichts 3 abgezweigt und breitet sich hinter dem Auskoppelstrahlteiler 5 auf einem Weg 7 weiter aus,

der sich von dem Weg des Primärlichtes unterscheidet. Die Trennung von Primärlicht 3 und Sekundärlicht 7 in dem Auskoppelstrahlteiler 5 kann dabei wellenlängenselektiv oder polarisationsselektiv erfolgen, was dem Fachmann allgemein bekannt ist und daher hier nicht weiter erläutert wird. Das Sekundärlicht 7 durchläuft ein zweites optisches Filter 8, in dem unerwünschtes Streulicht herausgefiltert wird. Dieses zweite optische Filter 8 ist ebenso wie das erste optische Bandpassfilter 4 optional. Das Filter 8 dient in erster Linie zum Eliminieren von Rayleigh-Streuung (Streuung ohne Änderung der Wellenlänge).

Als Filter 5 bzw. 8 werden vorzugsweise Notch-Filter verwendet. Bei Notch-Filtern lässt sich die Intensität des durchgelassenen Lichtes aufgrund der winkelabhängigen Reflektivität der Notch-Filter über die Wahl des jeweiligen Eintritts- bzw. Austrittswinkels einstellen. So wird der Eintrittswinkel (und Austrittswinkel) des Auskoppelstrahlteilers 5 vorzugsweise auf  $10^\circ$  eingestellt.

In einem dispergierenden Element 9 (Gitter, Prisma) wird das Sekundärlicht 7 in spektral zerlegtes Sekundärlicht 10 aufgespalten, das seinerseits von einer Photodetektoreinrichtung 11 erfasst wird. Die Photodetektoreinrichtung 11 ist vorzugsweise ein Vielkanaldetektor wie eine CCD-Kamera oder ein Photodioden-Array.

Das Signal von der Photodetektoreinrichtung 11 wird in einem ersten Speicher 12 als Intensitätssignal des Sekundärlichts 7 in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman-Spektralsignal in dem Speicher 12 gespeichert. Dieses abgespeicherte Spektrum ist das Spektrum für die erste Primärlichtwellenlänge  $\lambda_1$ . Dabei kann durch Auswahl der eingelesenen Kanäle der Vielkanalphotodetektoreinrichtung 11 zusätzlich zur optischen eine elektronische Einschränkung auf einen vorgegebenen Wellenlängenbereich vorgenommen werden.

Zum Erzeugen von monochromatischem Primärlicht 3 einer zweiten Wellenlänge  $\lambda_2$  ist eine zweite Lichtquelle 13 vorgesehen. Das Primärlicht von dieser zweiten Lichtquelle 13 wird über ei-



nen ersten Strahlteiler 14 und einen zweiten Strahlteiler 15 in den Strahlengang der ersten Lichtquelle 2 eingekoppelt, so dass das Primärlicht 3 der zweiten Wellenlänge  $\lambda_2$  auf identische Art in das Körpergewebe 1 eingestrahlt wird wie das Primärlicht 3  
5 der ersten Wellenlänge  $\lambda_1$ .

In einem zweiten Speicher 19 wird analog zu oben die Intensität des Sekundärlichts 7 in Abhängigkeit von der Wellenlänge als zweites Raman- Spektralsignal abgespeichert, wobei gegeben-  
10 nenfalls auch hier eine zusätzliche elektronische Einschränkung auf einen vorgegebenen Wellenlängenbereich stattfinden kann. Dieses abgespeicherte Spektrum ist das Spektrum für die zweite Primärlichtwellenlänge  $\lambda_2$ .

15 Das Umschalten des Ausgangs der Photodetektoreinrichtung 11 auf den zweiten Speicher 19 erfolgt mit einem Schaltgatter 18, das zwischen die Photodetektoreinrichtung 11 einerseits und den ersten Speicher 12 bzw. zweiten Speicher 19 andererseits geschaltet ist. Das Gatter 18 wird durch eine Systemuhr 16 über  
20 elektrische Steuerleitungen 17 synchron zu der ersten Lichtquelle 2 und der zweiten Lichtquelle 13 angesteuert, so dass die Speicher 12 und 19 nur das "eigene" Spektrum abspeichern und es nicht zu einer Überlappung der Spektren in den Speichern 12 und 19 kommt.

25

In einer Komparatoreinrichtung 20 werden das erste Raman-Spektralsignal in dem ersten Speicher 12 und das zweite Raman-Spektralsignal in dem zweiten Speicher 19 miteinander verglichen, und es wird ein Vergleichssignal erzeugt, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe 1 bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind und nur noch Merkmale des Sekundärlichtes bleiben, die auf die gesuchte Substanz im Körpergewebe bzw. in der Körperflüssigkeit zurückzuführen sind. Insbesondere ist die Komparatoreinheit 20 ein Subtrahierer, der  
30 die zwei Ramanspektren in dem Speicher 12 bzw. 19 voneinander abzieht. Ebenfalls kann jedoch auch ein Dividierer als Komparatoreinheit 20 verwendet werden, und weitere mathematische Verfahren für das Aufbereiten der Daten vor und nach dem Vergleich können ebenfalls angewendet werden.

Als mathematische Verfahren zur Aufbereitung der Daten vor und nach dem Vergleich können z.B. bekannte multivariate statistische Methoden verwendet werden, unter anderem die partielle lineare Regression, die Hauptkomponentenanalyse (principal component analysis PCA) und Hauptkomponentenregression (principal component regression PCR). Dabei wird eine Anzahl von gemessenen Raman- Spektralsignalen, die man für variable Glukosekonzentrationen erhält, mit einer multivariaten statistischen Methode analysiert. Im Unterschied zu der einfachen Differenzbildung zweier Signale erlauben diese statistischen Methoden eine besonders gute Erkennung des Glukosespektrums (pattern recognition) gegenüber dem Untergrund und damit eine genauere Bestimmung der Glukosekonzentration. Bei der praktischen Anwendung am Patienten wird eine möglichst große Anzahl von Raman-Spektren zu verschiedenen Zeiten aufgenommen und abgespeichert. Jedem abgespeicherten Raman- Spektrum entspricht eine bestimmte Glukosekonzentration im Blut als Variable. Je mehr Raman-Spektren als Funktion der Glukosekonzentration für die multivariate statistische Analyse zur Verfügung stehen, umso besser und genauer lässt sich die Glukosekonzentration aus der statistischen Regressionsanalyse bestimmen.

Im einzelnen wird bei dem Verfahren zum nicht- invasiven Nachweis einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe 1 mit Raman- Spektroskopie monochromatisches Primärlicht 3 einer ersten Wellenlänge  $\lambda_1$  in das Körpergewebe 1 bei einem ersten Parameterwert eingestrahlt. Anschließend wird das Sekundärlicht 7, das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, erfasst und die Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman- Spektralsignal bei der ersten Wellenlänge  $\lambda_1$  und bei dem ersten Parameterwert in einem ersten Speicher 12 abgespeichert. Diese beiden Schritte des Einstrahlens der Primärwellenlänge und des Erfassens und Abspeicherns des Sekundärlichtes bei weiteren Primärwellenlängen und weiteren Parameterwerten wiederholt, wobei die Intensität des Sekundärlichtes 7 bei jeder weiteren Primärwellenlänge  $\lambda_1$ ,  $\lambda_j$ ,  $\lambda_k$  etc. und bei jedem weiteren Parameterwert in einem jeweils weiteren Speicher abgespeichert wird. Die Raman- Spekt-

ralsignale werden schließlich mit einer multivariaten statistischen Methode verglichen, um wenigstens eine Abfragewellenlänge  $\lambda_3$  zu bestimmen, bei der sich die Intensität analog zu der Änderung der Parameterwerten verhält, sich also die Intensität analoge zu den Parameterwerten ändert. Die Intensität bei der Abfragewellenlänge  $\lambda_3$  wird in den mehreren Raman- Spektralsignalen bestimmt und als Funktion der Parameterwerte ausgegeben.

Vorzugsweise ist der Parameter der Blutzuckerspiegel des Patienten, d.h. man misst z.B. über einen längeren Zeitraum, über den sich der Blutzuckerspiegel ändert (z.B. 20 Spektren über einen Tag), mehrere Spektren und vergleicht sie mit multivariaten statistischen Methoden.

Die Merkmale im Vergleichssignal, die auf die gesuchte Substanz im Körpergewebe bzw. in der Körperflüssigkeit zurückzuführen sind, werden in einer Diskriminatoreinheit 21 analysiert. Insbesondere wird die Intensität des Vergleichssignals bei wenigstens einer Abfragewellenlänge  $\lambda_3$  bestimmt, bei der ein Signal der gesuchten Substanz erwartet wird, wobei die Intensität der Konzentration der Substanz in der Körperflüssigkeit entspricht.

Das Ergebnis der Messung wird über eine Ausgabeeinrichtung 22 dargestellt, wobei diese Ausgabeeinrichtung 22 ein einfacher Bildschirm, ein Drucker oder ein PC mit allen entsprechenden und allgemein bekannten Ausgabemöglichkeiten ist.

Die Raman- Spektren in dem ersten Speicher 12, dem zweiten Speicher 19 und in der Diskriminatoreinheit 21 sind als Simulation in Fig. 4A bis C dargestellt. In den Fig. 4A bis C ist die Wellenlänge des spektral zerlegten Sekundärlichts 10 als Kanalnummer der Photodetektoreinrichtung 11 auf der Abszisse aufgetragen. Die Höhe des Signals von der Photodetektoreinrichtung 11, die der Lichtintensität entspricht, ist auf der Ordinate in beliebigen Einheiten dargestellt. Im wesentlichen zeigt das Spektrum in Fig. 4A einen Intensitätsverlauf, der zu größeren Kanalnummern (Wellenlängen), also nach rechts im Spektrum ansteigt. Diesem Verlauf ist eine Raman- Linie bei einer Wellen-

länge  $\lambda_3$  überlagert (hier ist nur eine Linie, z.B. Stokes- Linie, dargestellt, tatsächlich sind aber zwei Linien zu erwarten, nämlich außer der Stokes- auch eine Anti- Stokes- Linie, die allerdings schwächer ist).

5

Im wesentlichen das gleiche Spektrum ergibt sich bei einer zweiten Wellenlänge des Primärlichts, das in Fig. 4B gezeigt ist, wobei nach Erkenntnis des Erfinders der im wesentlichen unstrukturierte Untergrund (Anstieg nach rechts) im wesentlichen unverändert ist gegenüber dem Spektrum in Fig. 4A, das für die erste Wellenlänge des Primärlichts aufgenommen wurde. Auch in Fig. 4B ist eine Raman- Linie dem breiten Anstieg überlagert, die bei der Wellenlänge  $\lambda_4$  liegt. Die Energiedifferenz zwischen der Raman- Linie bei der Wellenlänge  $\lambda_3$  in dem ersten Spektrum und bei der Wellenlänge  $\lambda_4$  in dem zweiten Spektrum entspricht der Energiedifferenz zwischen der ersten und der zweiten Wellenlänge des Primärlichtes  $\lambda_1$  bzw.  $\lambda_2$  von der ersten Lichtquelle 2 bzw. zweiten Lichtquelle 13.

In Fig. 4C ist das Differenzspektrum der beiden Spektren in Fig. 4A und 4B gezeigt, bei dem der Untergrund, der auf das umliegende Körpergewebe zurückzuführen ist, eliminiert ist. Damit ist die Intensität der beiden Raman- Linien bei den Wellenlängen  $\lambda_3$  bzw.  $\lambda_4$  bis auf das Vorzeichen eindeutig bestimmbar und ergibt ein Maß für die Konzentration der gesuchten Substanz. (Zusätzlich erscheinen in den Differenzspektren auch entsprechende hier nicht dargestellte Anti- Stokes- Linien, die gegebenenfalls auch oder zusätzlich zur Bestimmung der Konzentration herangezogen werden können.)

30

Bei der Ausführungsform nach Fig. 1 ist weiterhin eine dritte Lichtquelle 24 vorgesehen, deren Licht über einen Strahlteiler 23 in den Strahlengang zwischen der ersten Lichtquelle 2 und der Abbildungs- /Auffangoptik 6 eingekoppelt wird. (Der Strahlengang in dieser und in den folgenden Figuren ist nur symbolisch zu verstehen. Dem Fachmann ist klar, dass der genaue Aufbau der Optik von den jeweiligen Transmissions- und Reflexionseigenschaften der verwendeten optischen Elemente abhängt. So kann der Strahlteiler 23 auch zwischen dem Photodetektor 9 and

35

dem Auskoppelstrahlteiler 5 angeordnet werden. Gegebenenfalls kann die dritte Lichtquelle 24 unabhängig von der ersten Lichtquelle 2 und der zweiten Lichtquelle 13 in das Körpergewebe 1 eingestrahlt werden.) Auch für den Strahlteiler 23 kann wie für  
5 den Auskopplungsstrahlteiler 5 ein Notch- Filter eingesetzt werden, das Licht mit der Wellenlänge der dritten Lichtquelle reflektiert und alle anderen Wellenlängen durchlässt. Die dritte Lichtquelle 24 wird kurz vor der ersten bzw. zweiten Lichtquelle 2 und 13 aktiviert. Damit lässt sich das gesuchte Molekül "präparieren", z.B. lassen sich höhere Schwingungszustände  
10 in dem Molekül bevölkern bzw. untere Schwingungszustände des Moleküls depopulieren. Damit lassen sich Intensitätsunterschiede im spektralen Signal induzieren und die Selektivität bei der Anregung der gesuchten Substanz durch das Primärlicht wird angehoben. Insbesondere lässt sich dies Verfahren auf Anti- Stokes- Übergänge anwenden, die u.U. nur so ermöglicht werden und damit eine besonders empfindliche Messsonde darstellen. Die von  
15 der dritten Lichtquelle 24 erzeugte Wellenlänge  $\lambda_{\text{Anr}}$  liegt daher zwischen  $1,2\mu\text{m}$  und  $3\mu\text{m}$ . In diesem Spektralbereich ist das Körpergewebe im wesentlichen transparent. Auch in diesem Bereich  
20 wird als Lichtquelle 24 vorzugsweise ein Laser verwendet.

Aus Gründen der Relaxation der durch die dritte Lichtquelle 24 angeregten Zustände in dem gesuchten Molekül erzeugen die  
25 erste, zweite und dritte Lichtquelle 2, 13 und 24 vorzugsweise Pulse mit einer Pulslänge im Pikosekundenbereich. Dies lässt sich besonders gut mit Lasern als Lichtquelle erreichen.

In Fig. 2 ist eine alternative Vorrichtung zum nicht- invasiven Bestimmen einer Konzentration einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe 1 mit Raman- Spektroskopie dargestellt, wobei gleiche Bestandteile wie bei der Vorrichtung nach Fig. 1 mit denselben Bezugszeichen bezeichnet sind und nicht noch einmal erläutert werden. Diese zweite Vorrichtung  
30 basiert auf dem Nachweis der Temperaturabhängigkeit des Messsignals. Der Aufbau dieser Vorrichtung ist im wesentlichen identisch zu dem der Vorrichtung nach Fig. 1, lediglich die zweite Lichtquelle fehlt in Fig. 2. Es ist also eine Lichtquelle 2 zum Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht 3 einer  
35

vorgegebenen Wellenlänge  $\lambda$  in das Körpergewebe 1 vorgesehen. Statt einer zweiten Lichtquelle ist eine Heizeinrichtung 25 zum Einstellen einer ersten Temperatur und einer zweiten Temperatur in dem Körpergewebe 1 vorgesehen, wobei die Heizeinrichtung 25  
5 vorzugsweise ein Infrarotstrahler ist, der rechts in Fig. 2 durch eine sternförmige Struktur angedeutet ist.

Die optischen Elemente 4 bis 6 und 8 sowie die Photodetektoreinrichtung 11 mit dispergierendem Element 9 zum Erfassen von  
10 Sekundärlicht 7, das von dem Körpergewebe 1 zurückgestreut wird, der erste Speicher 12 zum Abspeichern des ersten Raman-Spektralsignals und der zweite Speicher 19 zum Abspeichern des zweiten Raman-Spektralsignals sowie die Komparatoreinrichtung 20 und die Diskriminatoreinrichtung 21 sind identisch zu den  
15 entsprechenden Elementen in Fig. 1.

Die Messung wird zuerst bei einer ersten Temperatur  $T_1$  des Körpergewebes 1 durchgeführt, und das entsprechende Spektrum wird in dem ersten Speicher 12 abgespeichert. Sodann wird die  
20 Messung mit derselben Primärlichtwellenlänge  $\lambda$  bei einer zweiten Temperatur  $T_2$  wiederholt, und das zweite Spektrum wird in dem zweiten Speicher 19 abgespeichert. Das Vergleichen und Auswerten der Spektren erfolgt in derselben Weise wie oben bei der Vorrichtung nach Fig. 1.

25 Die entsprechenden Spektren in dem ersten Speicher 12, dem zweiten Speicher 19 und in der Diskriminatoreinheit 21 sind in Fig. 5A bis C dargestellt. Hier liegen die beiden Raman-Linien beide bei der gleichen Wellenlänge  $\lambda_3$ , da die Anregungswellenlänge  $\lambda$  sich nicht verändert hat, die gestreute Linie hat also  
30 in beiden Messdurchgängen dieselbe Wellenlänge. Im übrigen weisen die Spektren in Fig. 5A und 5B ebenfalls einen breiten Anstieg auf, der nach Beobachtungen des Erfinders auf das Körpergewebe zurückzuführen ist und also nicht durch die gesuchte  
35 Substanz bedingt ist.

Das Differenzspektrum in Fig. 5C weist im Unterschied zu dem Spektrum in Fig. 4C nur eine Linie auf, nämlich die bei der

Wellenlänge  $\lambda_3$ . Auch bei dieser Linie ist die Intensität ein Maß für die Konzentration der Substanz in der Körperflüssigkeit.

Bei manchen Substanzen ist das Raman- Signal sehr schwach,  
5 und es müssen zur Überwindung der extremen Schwierigkeiten bei dem Herausfiltern des Raman- Signals der gesuchten Substanz aus dem Hindergrundsignal des Körpergewebes gleichzeitig mehrere verschiedene Parameter verändert werden, um ein ausreichendes Signal zu erhalten. Es mag sogar so sein, dass eine Intensi-  
10 tätsmessung nicht mehr möglich ist, sondern nur noch ein qualitativer Nachweis der Substanz geführt werden kann. In Fig. 3 ist eine Vorrichtung zum nicht- invasiven Bestimmen einer Konzentration bzw. zum Nachweis einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe 1 mit Raman- Spektroskopie  
15 dargestellt, wobei gleiche Bestandteile wie bei der Vorrichtung nach Fig. 1 oder Fig. 2 mit denselben Bezugszeichen bezeichnet sind und nicht noch einmal erläutert werden.

Die Vorrichtung nach Fig. 3 umfasst eine erste Lichtquelle 2  
20 und eine zweite Lichtquelle 13 zum Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht 3 einer ersten Wellenlänge  $\lambda_1$  bzw. einer zweiten Wellenlänge  $\lambda_2$  in das Körpergewebe 1. Ferner umfasst die Vorrichtung eine Heizeinrichtung 25 zum Einstellen einer ersten Temperatur und einer zweiten Temperatur in dem Körpergewebe 1.  
25 Mit einer Photodetektoreinrichtung 11 wird das spektral zerlegte Sekundärlicht 7 aufgenommen, und in einem ersten Speicher 19 wird ein erstes Raman- Spektralsignal für die erste Primärlichtwellenlänge  $\lambda_1$  und bei der ersten Temperatur  $T_1$  aufgenommen, in einem zweiten Speicher 19 wird ein zweites Raman-  
30 Spektralsignal für die zweite Primärlichtwellenlänge  $\lambda_2$  und bei der ersten Temperatur  $T_1$  aufgenommen, in einem dritten Speicher 26 wird ein drittes Raman- Spektralsignal für die erste Primärlichtwellenlänge  $\lambda_1$  und bei der zweiten Temperatur  $T_2$  aufgenommen, und in einem vierten Speicher 27 wird ein viertes Raman-  
35 Spektralsignal für die zweite Primärlichtwellenlänge  $\lambda_2$  und bei der zweiten Temperatur  $T_2$  aufgenommen.

In einer ersten Komparatoreinrichtung 20 werden das erste Raman- Spektralsignal in dem ersten Speicher 12 und das zweite

Raman- Spektralsignal in dem zweiten Speicher 19 miteinander verglichen und ein erstes Vergleichssignal erzeugt, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind.

5

Analog werden in einer zweiten Komparatoreinrichtung 28 das dritte Raman- Spektralsignal in dem dritten Speicher 26 und das vierte Raman- Spektralsignal in dem vierten Speicher 27 miteinander verglichen und ein zweites Vergleichssignal erzeugt, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind.

10

In einer dritten Komparatoreinrichtung 29 werden das erste Vergleichssignal von der ersten Komparatoreinrichtung 20 und das zweite Vergleichssignal von der zweiten Komparatoreinrichtung 28 miteinander verglichen und ein drittes Vergleichssignal in Abhängigkeit von dem Vergleichsergebnis erzeugt.

15

In einer Diskriminatoreinrichtung 21 wird die Intensität des dritten Vergleichssignals bei wenigstens einer Abfragewellenlänge  $\lambda_3$  bestimmt, und in einer Ausgabeeinheit 22 wird ein Identifikationssignal ausgegeben, das anzeigt, ob bei der wenigstens einen Abfragewellenlänge  $\lambda_3$  eine temperaturabhängige Signalveränderung vorliegt. Ist der temperaturabhängige Unterschied zwischen dem ersten Vergleichssignal und dem zweiten Vergleichssignal groß genug, so kann daraus wiederum eine Angabe über die Konzentration der gesuchten Substanz in der Körperflüssigkeit abgeleitet werden, wobei zur Berechnung auf die bekannte Temperaturdifferenz zwischen den Messungen zurückgegriffen wird. Damit wird erfindungsgemäß eine sehr empfindliche Mehrfachdifferentialvorrichtung zum Nachweis von Substanzen geschaffen.

20

25

30

Da die Messungen mit der Vorrichtung nach Fig. 3 u.U. beeinträchtigt sind durch statistisches Rauschen, wird die erste Lichtquelle 2 und die zweite Lichtquelle 13 gepulst betrieben. Synchron zur Ansteuerung der Lichtquellen 2 und 13 durch die Systemuhr 16 werden die Photodetektoreinrichtung 11 und der erste Speicher 12, der zweite Speicher 19, der dritte Speicher

35



26 und der vierte Speicher 27 mit einer vorgegebenen Frequenz betrieben. So werden beispielsweise 100 Messungen bei der ersten Primärlichtwellenlänge  $\lambda_1$  und der ersten Temperatur  $T_1$  durchgeführt, 100 Messungen bei der ersten Primärlichtwellenlänge  $\lambda_1$  und der zweiten Temperatur  $T_2$ , etc.. Als Zwischenspeicher ist für diese Art Messungen ein lock-in-Verstärker 30 vorgesehen, der ebenfalls durch die Systemuhr 16 angesteuert und synchronisiert wird.

10 Die Frequenz, mit der Messsequenzen durchgeführt werden, liegen vorzugsweise im Bereich von einigen Hertz bis zu einigen Kilohertz, so dass die Aufnahme von 100 Messungen für zwei Primärlichtwellenlängen bei einer Frequenz der Messsequenz von einigen Hertz bis Kilohertz innerhalb von wenigen Minuten abgeschlossen ist.

Die Einstellung der Temperatur in dem Körpergewebe dauert naturgemäß etwas länger, so dass die Frequenz, mit der die Heizvorrichtung 25 zum Einstellen der ersten und zweiten Temperatur des Körpergewebes angesteuert wird, vorzugsweise die Herzfrequenz ist. Dazu ist bei der Vorrichtung nach Fig. 2 oder 3 eine (nicht dargestellte) Aufnahmevorrichtung zum Erfassen der Herzfrequenz vorgesehen.

25 Für den Nachweis von Glukose in Körperflüssigkeiten in einem Körpergewebe 1 erzeugen die Lichtquellen eine Wellenlänge  $\lambda_1$  bzw.  $\lambda_2$  des Primärlichtes 3 zwischen 750nm und 850nm. In diesem Wellenlängenbereich ist das Körpergewebe 1 im wesentlichen transparent.

30 Mit den obigen Vorrichtungen lassen sich die im folgenden beschriebenen Verfahren zum Nachweis bzw. zur Konzentrationsbestimmung von Substanzen durchführen.

35 Ein erfindungsgemäßes Verfahren zum nicht-invasiven Bestimmen einer Konzentration einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe 1 mit Raman-Spektroskopie umfasst als ersten Schritt das Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht 3 einer ersten Wellenlänge  $\lambda_1$  in das Körpergewebe 1.

Das Sekundärlicht 7, das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, wird erfasst, und seine Intensität wird in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman- Spektralsignal in einem ersten Speicher 12 abgespeichert.

5

Wie oben bereits erläutert und in Fig. 4A, 4B, 5A und 5B ersichtlich, umfasst ein Raman- Spektrum bereits Information über die gesuchte Substanz. Wegen der sehr großen Komplexität der Zusammensetzung menschlichen Gewebes und Bluts ist es jedoch  
10 notwendig, das Hintergrundsignal des Körpergewebes zu eliminieren. Das erfindungsgemäße Verfahren beruht auf einem Detektieren eines ersten Intensitätssignals bei einem der nachzuweisenden Substanz für die erste Primärlichtwellenlänge ( $\lambda_1$ ) entsprechenden Wellenlängenspektrum und einem anschließenden Detektieren  
15 eines zweiten Intensitätssignals bei einem entsprechend der zweiten Primärlichtwellenlänge ( $\lambda_2$ ) gegenüber der ersten Primärlichtwellenlänge verschobenen Wellenlängenspektrum. Im folgenden wird der Einfachheit halber Glukose als nachzuweisende Substanz angenommen; sinngemäß sind die erfindungsgemäßen Verfahren  
20 und Vorrichtungen auch auf andere Substanzen anzuwenden. Bei der Glukose handelt es sich um ein gegenüber den anderen im Körpergewebe und Blut vorhandenen Substanzen relativ kleines Molekül, welches im Blut oder im Körpergewebe ein scharfes Raman- Spektrum mit Linienbreiten von ca. 2,5meV ( $20\text{cm}^{-1}$ ) aufweist.  
25 Dies entspricht bei einer Primärlichtwellenlänge von ca. 800nm einer Linienbreite von ca. 1,3nm, einer typischen Linienbreite von Diodenlasern in diesem Wellenlängenbereich. Das Hintergrund Raman- Spektrum des Bluts oder Körpergewebes, welches überwiegend von sehr großen Molekülen und von Wasser herrührt,  
30 ist demgegenüber spektral sehr breit. Wird also die Primärlichtwellenlänge um ein geringfügiges Vielfaches der Bandbreite eines Raman- Übergangs der Glukose verschoben, also um wenige nm, so führt dies für das Raman- Spektrum der Glukose zu einer klar ausgeprägten Verschiebung, während das  
35 Hintergrund Raman- Spektrum weitestgehend unverändert bleibt. Entsprechend dem erfindungsgemäßen Verfahren werden also zwei Raman- Spektren bei unterschiedlichen Primärwellenlängen aufgenommen. Durch Subtrahieren beider Raman- Spektren wird das Hintergrundspektrum eliminiert und man erhält das von der  
40 Glukose stammende Raman- Spektrum in diesem Differenzspektrum

Spektrum in diesem Differenzspektrum als Spektrum von positiven und negativen Peaks auf einer Basislinie. Diese Basislinie sollte im Idealfall konstant sein. Wegen der zwar geringen, aber nicht vollständig vernachlässigbaren Abhängigkeit des Hintergrund Raman- Spektrums von der Primärwellenlänge ist diese Basislinie unter realen Messbedingungen nicht vollständig konstant, sondern zeigt eine sehr breite Struktur, die aber leicht von den gesuchten schmallinigen Strukturen im Spektrum unterschieden werden kann. Erfindungsgemäß ergeben sich auf dieser Basislinie für jeden Schwingungsübergang der Glukose ein gegenüber der Basislinie positiver und negativer Peak, wobei die Peakmaxima entsprechend dem Wellenlängenunterschied (Wellenzahlunterschied, Energiedifferenz) des Primärlichtes gegeneinander verschoben sind und das Intensitätssignal in der Mitte zwischen dem positiven und negativen Peak dem der Basislinie entspricht. Bei bekanntem Wellenlängenunterschied beider Primärlichtwellenlängen und bekannter Bandbreite und Peakform der Peaks des Glukose Raman- Spektrums kann also ein der Glukosekonzentration proportionales Intensitätssignal durch Datenanalyse des Differenzspektrums und Vergleich mit gemessenen und modellierten Spektren erhalten werden.

Das Verfahren umfasst daher als weiteren Schritt ein Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht 3 einer zweiten Wellenlänge  $\lambda_2$  in das Körpergewebe 1 sowie das Erfassen von Sekundärlicht 7, das von dem Körpergewebe 1 bei der zweiten Primärwellenlänge zurückgestreut wird. Die Intensität des Sekundärlichts wird in Abhängigkeit von der Wellenlänge als zweites Raman- Spektralsignal bei der zweiten Wellenlänge  $\lambda_2$  in einem zweiten Speicher 19 abgespeichert. Das erste Raman- Spektralsignal in dem ersten Speicher 12 und das zweite Raman- Spektralsignal in dem zweiten Speicher 19 werden miteinander verglichen, und es wird ein Vergleichssignal erzeugt, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind. Aus der Intensität des Vergleichssignals bei wenigstens einer Abfragewellenlänge  $\lambda_3$  wird die Konzentration der Substanz in der Körperflüssigkeit ermittelt.

Analog wird bei der Vorrichtung nach Fig. 2 ein Verfahren zum nicht- invasiven Bestimmen einer Konzentration einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe 1 mit Raman-Spektroskopie durchgeführt, das die Schritte umfasst: a) Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht 3 einer vorgegebenen Wellenlänge  $\lambda$  in das Körpergewebe 1 bei einer ersten Temperatur, b) Erfassen von Sekundärlicht 7, das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, und Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman- Spektralsignal bei der ersten Temperatur  $T_1$  in einem ersten Speicher 12, c) Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht 3 der vorgegebenen Wellenlänge  $\lambda$  in das Körpergewebe 1 bei einer zweiten Temperatur, d) Erfassen von Sekundärlicht 7, das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, und Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als zweites Raman- Spektralsignal bei der zweiten Temperatur  $T_2$  in einem zweiten Speicher 19, e) Vergleichen des ersten Raman- Spektralsignals in dem ersten Speicher 12 und des zweiten Raman- Spektralsignals in dem zweiten Speicher 19 miteinander und Erzeugen eines Vergleichssignals, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind, f) Bestimmen der Intensität des Vergleichssignals bei wenigstens einer Abfragewellenlänge  $\lambda_3$ , wobei die Intensität der Konzentration der Substanz in der Körperflüssigkeit entspricht.

Die Intensität der Raman- Streuung ist proportional der Besetzung des Energieniveaus, aus dem die Streuung erfolgt; die Besetzung der Energieniveaus in Abhängigkeit von der absoluten Temperatur (in Kelvin) ist durch die Boltzmann- Verteilung gegeben. Bei einer Erhöhung der Temperatur wird die Besetzung der Moleküle in angeregten Schwingungsniveaus erhöht und entsprechend die Besetzung im Schwingungsgrundzustand erniedrigt (und umgekehrt). Das Intensitätssignal der Stokes- Raman- Streuung (auf der gegenüber der Primärlichtwellenlänge längerwelligen Seite) wird also bei einer Temperaturerhöhung des Körpergewebes verringert, während das Intensitätssignal der anti- Stokes- Raman- Streuung (auf der gegenüber der Primärlichtwellenlänge kürzerwelligen Seite) erhöht wird. Eine Temperaturänderung um

3K bewirkt eine Änderung des Raman- Signals der nachzuweisenden Substanz von 1%. Mit einer für das menschliche Körpergewebe realistisch möglichen Temperaturänderung von ca. 10K (z.B. in der Stirn) lässt sich also eine Intensitätsänderung des Raman- Signals von über 3% erreichen. Damit kann die Glukosekonzentration im Blut mit der erforderlichen Empfindlichkeit und Genauigkeit bestimmt werden.

Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren wird die Temperaturabhängigkeit der Raman- Streuung ausgenutzt, um ein mit der Konzentration der nachzuweisenden Substanz korreliertes Signal zu erhalten. Zur Bestimmung der Konzentration der nachzuweisenden Substanz im Körpergewebe wird Primärlicht in mindestens einem Wellenlängenbereich eingestrahlt und das Sekundärlicht wird erfasst und spektral zerlegt. Das Eliminieren des Hintergrundsignals des Bluts und des Körpergewebes wird erfindungsgemäß dadurch erreicht, dass das Raman- Spektrum der nachzuweisenden Substanz für mindestens zwei verschiedene Temperaturen des Körpergewebes aufgenommen wird. Das Intensitätssignal des Raman- Spektrums der nachzuweisenden Substanz hängt von der Temperatur ab und ist entsprechend der unterschiedlichen Temperatur des Körpergewebes unterschiedlich. Demgegenüber ist das Raman- Spektrum des Körpergewebes weitestgehend unabhängig von seiner Temperatur. Durch Subtrahieren beider Raman- Spektren sowie durch Datenanalyse des Differenzspektrums und Vergleich mit gemessenen und modellierten Spektren lässt sich also das Hintergrundsignal des Körpergewebes eliminieren und ein Signal gewinnen, welches proportional zu der Konzentration der nachzuweisenden Substanz ist.

30

Für den qualitativen Nachweis einer gesuchten Substanz bzw. zur Erhöhung der Empfindlichkeit und Genauigkeit umfasst das erfindungsgemäße Verfahren zum nicht- invasiven Bestimmen einer Konzentration bzw. Nachweis einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe 1 mit Raman- Spektroskopie nach Fig. 3 die Schritte a) Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht 3 einer ersten Wellenlänge  $\lambda_1$  in das Körpergewebe 1 bei einer ersten Temperatur, b) Erfassen von Sekundärlicht 7, das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, und Abspeichern der

Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman- Spektralsignal bei der ersten Wellenlänge  $\lambda_1$  und bei der ersten Temperatur  $T_1$  in einem ersten Speicher 12, c) Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht 3 einer zweiten Wellenlänge  $\lambda_2$  in das Körpergewebe 1 bei einer ersten Temperatur, d) Erfassen von Sekundärlicht 7, das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, und Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als zweites Raman- Spektralsignal bei der zweiten Wellenlänge  $\lambda_2$  und bei der ersten Temperatur  $T_1$  in einem zweiten Speicher 19, e) Vergleichen des ersten Raman- Spektralsignals in dem ersten Speicher 12 und des zweiten Raman- Spektralsignals in dem zweiten Speicher 19 miteinander und Erzeugen eines ersten Vergleichssignals, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind, f) Bestimmen der Intensität des ersten Vergleichssignals bei wenigstens einer Abfragewellenlänge  $\lambda_3$ , g) Wiederholen der Schritte a) bis f) bei einer zweiten Temperatur und Erzeugen eines zweiten Vergleichssignals bei der wenigstens einen Abfragewellenlänge  $\lambda_3$ , wobei die Intensität des Sekundärlichtes 7 bei der ersten und zweiten Wellenlänge  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  in einem dritten Speicher 26 bzw. einem vierten Speicher 28 abgespeichert wird und ein zweites Vergleichssignal erzeugt wird, h) Vergleichen des ersten und des zweiten Vergleichssignals und Erzeugen eines Identifikationssignals in Abhängigkeit von dem Vergleichsergebnis, das anzeigt, ob bei der wenigstens einen Abfragewellenlänge  $\lambda_3$  eine temperaturabhängige Signalveränderung vorliegt. Das Verfahren dieser Art stellt ein sehr empfindliches Mehrfachdifferentialverfahren zum Nachweis von Substanzen dar. Insbesondere kann mit der Änderung beider Parameter die Restwelligkeit (Verschiebung der Hintergrundstrukturen im Differenzspektrum) in den beiden ersten Vergleichsspektren eliminiert werden, so dass die Basislinie im Differenzspektrum bei diesem Verfahren noch weniger Strukturen aufweist als bei dem "einfachen" Vergleich. Es lässt sich so eine höhere Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Konzentrationsbestimmung der gesuchten Substanz erreichen. Die Temperaturänderungen zwischen  $T_1$  und  $T_2$  sind vorzugsweise mit dem Zyklus Systole/Diastole des Blutkreislaufs synchronisiert.

Bei dem Verfahren mit der Vorrichtung nach Fig. 3 wird das Primärlicht 3 der ersten und/oder zweiten Wellenlänge vorzugsweise mit einer vorgegebenen Frequenz eingestrahlt, und das  
5 erste und das zweite Raman- Spektralsignal wird mit einem lock-in- Verstärker 30 bei der vorgegebenen Frequenz aufgenommen und abgespeichert. Dabei liegt die vorgegebene Frequenz vorzugsweise im Bereich von einigen Hertz bis Kilohertz.

10 Alle Verfahren werden vorzugsweise bei Sekundärlicht 7 im Stokes- Bereich und/oder Anti- Stokes- Bereich des Raman- Spektrums durchgeführt, um die Nachweis- und Messempfindlichkeit noch weiter zu steigern. Das bedeutet, dass der erfasste Wellenlängenbereich bei Sekundärlicht zu kürzeren Wellenlängen  
15 als der Primärlichtwellenlänge  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  (Anti- Stokes) bzw. zu längeren Wellenlängenbereichen (Stokes) verschoben ist.

Die Wellenlänge  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  des Primärlichts 3 liegt in einem Bereich in dem das Körpergewebe im wesentlich transparent ist,  
20 also zwischen 750nm und 850nm, und der Absolutwert der Differenz zwischen der Wellenlänge  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  des Primärlichts 3 und der Abfragewellenlänge  $\lambda_3$  ist z.B. für Glukosemessungen vorzugsweise kleiner als 250meV ( $2000\text{cm}^{-1}$ ), aber größer als 2,5meV ( $20\text{cm}^{-1}$ ).

25 Darüber hinaus kann im wesentlichen zeitgleich mit dem Primärlicht 3 ein Anregungslicht mit einer Wellenlänge  $\lambda_{\text{Anr}}$  in das Körpergewebe 1 eingestrahlt werden, die von der Substanz absorbiert wird, so dass es zur Anregung von Schwingungsbanden in dem gesuchten Molekül kommt, was man im Messsignal verfolgen  
30 kann. Die Wellenlänge  $\lambda_{\text{Anr}}$  des Anregungslichtes liegt bei Glukose zwischen 1,2 $\mu\text{m}$  und 3 $\mu\text{m}$ .

Eine Eichung der Konzentration der nachzuweisenden Substanz in Körperflüssigkeiten oder im Körpergewebe erfordert ein konstantes, von der Konzentration der nachzuweisenden Substanz unabhängiges Bezugssignal. Dies erfolgt durch den Vergleich des  
35 der nachzuweisenden Substanz zugeordneten Messsignals mit einem bekannten konstanten Messsignal aus demselben Streuvolumen im Körpergewebe 1. Dazu eignen sich das weitestgehend konstante

Untergrundsignal (Anstieg in Fig. 4A, 4B; 5A, 5B), die restliche Rayleigh Streuung, sowie das vom Wasser oder einer anderen Substanz, deren Konzentration bekannt oder konstant ist, stammende Raman- Signal. Durch Intensitätsvergleich des Substanz-

5 signals mit dem Bezugssignal ergibt sich die Eichung der Konzentration der Substanz. Alternativ kann das Streuvolumen, aus dem das Sekundärlicht aufgenommen wird aus dem Bezugssignal bestimmt werden und aus dem Streuvolumen kann das Signal der

10 nachzuweisenden Substanz geeicht werden und damit ihre Konzentration bestimmt werden. Mit anderen Worten, zum Eichen der Konzentrationsbestimmung der gesuchten Substanz wird die Intensität des ersten Vergleichssignals bei der wenigstens einen Ab-

15 fragewellenlänge  $\lambda_3$  mit einer Intensität des ersten und/oder zweiten Raman- Spektralsignals bei einer weiteren Abfragewellenlänge  $\lambda_4$  verglichen. Die Eichung der Konzentrationsbestimmung der gesuchten Substanz kann z.B. als klinische Eichung (an anderem Ort und zu anderer Zeit als die eigentliche Messung) erfolgen.

20 Bei einer weiteren verbesserten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens erfolgt die Identifizierung des Glukosesignals und die Bestimmung der Glukosekonzentration durch an sich bekannte multivariate statistisch- mathematische Methoden zum Vergleichen und zur Analyse der gemessenen Raman- Spektral-

25 signale. Die multivariaten statistisch- mathematischen Methoden sind dabei in einem Computersystem implementiert, das mit der erfindungsgemäßen Messvorrichtung verbunden ist. Bei der Anwendung am Patienten wird zu unterschiedlichen Zeitpunkten eine möglichst große Zahl von Raman- Spektren gemessen und in der

30 Speichereinheit gespeichert. Wie dem Fachmann wohlbekannt ist, dienen diese Messungen dann zur Erstellung eines Kalibrationsmodells über eine multivariate statistische Regression (z.B. eine Hauptkomponentenregression). Die Glukosekonzentration für eine neue Messung lässt sich dann mit den aus dem Kalibrations-

35 modell erhaltenen Regressionskoeffizienten mit einer bestimmten Standardabweichung ermitteln. Je mehr Messdaten für die Auswertung zur Verfügung stehen, desto geringer wird die Standardabweichung für die Glukosekonzentration. Die Vorrichtung ist quasi in der Lage, durch "Lernen", also durch Datenakkumulation



und Verbesserung des aus der multivariaten statistischen Analyse erhaltenen Kalibrationsmodells, zu einer Verbesserung der Genauigkeit der Glukosekonzentrationsbestimmung zu kommen.

- 5 Zusammenfassend: Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zum nicht- invasiven Nachweis bzw. Bestimmen der Konzentration von Substanzen in Körperflüssigkeiten mit Raman-Spektroskopie. Um einen nicht- invasiven in vivo Nachweis von Substanzen in Körperflüssigkeiten mit sehr guter reproduzierbarer Analysegenauigkeit bei einer für den Patienten akzeptablen, kurzen Messdauer zu ermöglichen, wird ein Verfahren und eine Vorrichtung zum Durchführen einer Raman- Spektroskopie bei einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe 1 vorgeschlagen, wobei mindestens zwei Raman- Spektren unter unterschiedlichen physikalischen Bedingungen aufgenommen werden und miteinander verglichen werden. Das Vergleichsergebnis ist ein Nachweis der gesuchten Substanz bzw. ein Maß für die Konzentration der gesuchten Substanz.
- 15
- 20 Weitere Ausführungsformen, die über die oben beschriebenen hinausgehen, aber auf dem Prinzip der Erfindung aufbauen, lassen sich für den Fachmann leicht denken. So ist es selbstverständlich möglich, als erste und zweite Lichtquelle 2 und 13 eine einzige Laservorrichtung, z.B. eine Laserdiode zu verwenden, die durch Änderung eines elektrischen Parameters mit hoher Wiederholungsrate verstimmbar ist, so dass sich eine erste Wellenlänge  $\lambda_1$  und eine zweite (nicht zu weit von der ersten abweichende) Wellenlänge  $\lambda_2$  mit derselben Lichtquelle erzeugen lässt.
- 25
- 30 Des weiteren lassen sich die Strahlengänge 3 und 7 besonders gut an die Untersuchungsumgebung und -verhältnisse anpassen, wenn das Licht jeweils in Lichtwellenleiter oder Lichtwellenleiterbündel eingekoppelt wird bzw. von diesen aufgefangen wird.
- 35
- Darüber hinaus wird in der obigen Beschreibung unter dem Begriff "Heizeinrichtung" selbstverständlich auch eine Einrichtung für wechselndes Heizen und Kühlen verstanden. Bei einer Einrichtung, die sowohl zum Heizen als auch zum Kühlen geeignet

ist, lässt sich so ohne Schädigung des Körpergewebes die nutzbare Temperaturdifferenz zwischen  $T_1$  und  $T_2$  vergrößern, so dass sich ein besseres Signalrauschverhältnis ergibt.

- 5 Die Spektren in dem ersten, zweiten, dritten und vierten Speicher werden jeweils über einen vorgegebenen Wellenlängenbereich abgespeichert. Bei allen Verfahren und Vorrichtungen können zur Verbesserung der Messstatistik mehrere Messsequenzen durchgeführt werden, u.a. mit lock- in- Verstärkung.

Bezugszeichen

5		
	1	Körpergewebe
	2	erste Lichtquelle
	3	Primärlicht
	4	erstes optisches Filter
10	5	Auskopplungsstrahlteiler
	6	Abbildungs-/Auffangoptik
	7	Sekundärlicht
	8	zweites optisches Filter
	9	dispergierendes Element, Gitter
15	10	spektral zerlegtes Sekundärlicht
	11	Photodetektoreinrichtung, CCD-Kamera
	12	erster Speicher
	13	zweite Lichtquelle
	14	erster Strahlteiler
20	15	zweiter Strahlteiler bzw. Spiegel
	16	Systemuhr
	17	elektrische Steuerleitung
	18	Schaltgatter
	19	zweiter Speicher
25	20	erste Komparatoreinrichtung
	21	Diskriminatoreinheit
	22	Ausgabeeinrichtung
	23	dritter Strahlteiler bzw. Spiegel
	24	dritte Lichtquelle
30	25	Heizeinrichtung
	26	dritter Speicher
	27	vierter Speicher
	28	zweite Komparatoreinrichtung
	29	dritte Komparatoreinrichtung
35	30	Lock-in-Verstärker

Patentansprüche

5

1. Verfahren zum nicht-invasiven Bestimmen einer Konzentration einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe (1) mit Raman-Spektroskopie, das die Schritte umfasst:

- a) Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht (3) einer  
10 ersten Wellenlänge ( $\lambda_1$ ) in das Körpergewebe (1),
- b) Erfassen von Sekundärlicht (7), das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, und Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman-Spektralsignal bei der ersten Wellenlänge ( $\lambda_1$ ) in einem ersten  
15 Speicher (12),
- c) Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht (3) einer zweiten Wellenlänge ( $\lambda_2$ ) in das Körpergewebe (1),
- d) Erfassen von Sekundärlicht (7), das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, und Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als zweites Raman-Spektralsignal bei der zweiten Wellenlänge ( $\lambda_2$ ) in einem  
20 zweiten Speicher (19),
- e) Vergleichen des ersten Raman-Spektralsignals in dem ersten Speicher (12) und des zweiten Raman-Spektralsignals in dem  
25 zweiten Speicher (19) miteinander und Erzeugen eines Vergleichssignals, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind,
- f) Bestimmen einer Intensität des Vergleichssignals bei  
30 wenigstens einer Abfragewellenlänge ( $\lambda_3$ ), wobei die Intensität der Konzentration der Substanz in der Körperflüssigkeit entspricht.

2. Verfahren zum nicht-invasiven Bestimmen einer Konzentration einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe (1) mit Raman-Spektroskopie, das die Schritte umfasst:

- a) Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht (3) einer vorgegebenen Wellenlänge ( $\lambda$ ) in das Körpergewebe (1) bei einer ersten Temperatur,

b) Erfassen von Sekundärlicht (7), das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, und Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman-Spektralsignal bei der ersten Temperatur in einem ersten Speicher (12),

c) Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht (3) der vorgegebenen Wellenlänge ( $\lambda$ ) in das Körpergewebe (1) bei einer zweiten Temperatur,

d) Erfassen von Sekundärlicht (7), das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, und Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als zweites Raman-Spektralsignal bei der zweiten Temperatur in einem zweiten Speicher (19),

e) Vergleichen des ersten Raman-Spektralsignals in dem ersten Speicher (12) und des zweiten Raman-Spektralsignals in dem zweiten Speicher (19) miteinander und Erzeugen eines Vergleichssignals, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind,

f) Bestimmen einer Intensität des Vergleichssignals bei wenigstens einer Abfragewellenlänge ( $\lambda_3$ ), wobei die Intensität der Konzentration der Substanz in der Körperflüssigkeit entspricht.

3. Verfahren zum nicht-invasiven Nachweis einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe (1) mit Raman-Spektroskopie, das die Schritte umfasst:

a) Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht (3) einer ersten Wellenlänge ( $\lambda_1$ ) in das Körpergewebe (1) bei einer ersten Temperatur,

b) Erfassen von Sekundärlicht (7), das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, und Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman-Spektralsignal bei der ersten Wellenlänge ( $\lambda_1$ ) und bei der ersten Temperatur in einem ersten Speicher (12),

c) Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht (3) einer zweiten Wellenlänge ( $\lambda_2$ ) in das Körpergewebe (1) bei einer ersten Temperatur,

d) Erfassen von Sekundärlicht (7), das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, und Abspeichern der Intensität des Sekun-

därlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als zweites Raman-Spektralsignal bei der zweiten Wellenlänge ( $\lambda_2$ ) und bei der ersten Temperatur in einem zweiten Speicher (19),

5 e) Vergleichen des ersten Raman-Spektralsignals in dem ersten Speicher (12) und des zweiten Raman-Spektralsignals in dem zweiten Speicher (19) miteinander und Erzeugen eines ersten Vergleichssignals, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind,

10 f) Bestimmen einer Intensität des ersten Vergleichssignals bei wenigstens einer Abfragewellenlänge ( $\lambda_3$ ),

g) Wiederholen der Schritte a) bis f) bei einer zweiten Temperatur und Erzeugen eines zweiten Vergleichssignals bei der wenigstens einen Abfragewellenlänge ( $\lambda_3$ ), wobei die Intensität  
15 des Sekundärlichtes (7) bei der ersten und der zweiten Wellenlänge ( $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$ ) in einem dritten Speicher (26) bzw. einem vierten Speicher (28) abgespeichert wird und ein zweites Vergleichssignal erzeugt wird,

h) Vergleichen des ersten und des zweiten Vergleichssignals  
20 und Erzeugen eines Identifikationssignals in Abhängigkeit von dem Vergleichsergebnis bei der wenigstens einen Abfragewellenlänge ( $\lambda_3$ ).

4. Verfahren nach Anspruch 1 oder 3, dadurch gekennzeichnet,  
25 dass das Primärlicht (3) der ersten und/oder zweiten Wellenlänge mit einer vorgegebenen Frequenz eingestrahlt wird und das erste und das zweite Raman-Spektralsignal mit der vorgegebenen Frequenz aufgenommen wird.

30 5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass die vorgegebene Frequenz im Bereich von einigen kHz liegt.

6. Verfahren nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet,  
35 dass die erste und die zweite Temperatur des Körpergewebes mit einer vorgegebenen Frequenz eingestellt wird.

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass die vorgegebene Frequenz die Herzfrequenz ist.

8. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Primärlicht (3) mit der ersten und/oder zweiten Wellenlänge eine Pulslänge im Pikosekundenbereich aufweist.
- 5
9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass das Primärlicht durch einen Laser erzeugt wird.
- 10
10. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Sekundärlicht (7) im Stokes-Bereich und/oder Anti-Stokes-Bereich des Raman-Spektrums erfasst wird.
- 15
11. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Wellenlänge ( $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$ ) des Primärlichts (3) zwischen 750nm und 850nm liegt.
- 20
12. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Absolutwert der Differenz zwischen der Wellenlänge ( $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$ ) des Primärlichts (3) und der Abfragewellenlänge ( $\lambda_3$ ) kleiner als  $2000\text{cm}^{-1}$  ist.
- 25
13. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Absolutwert der Differenz zwischen der Wellenlänge ( $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$ ) des Primärlichts (3) und der Abfragewellenlänge ( $\lambda_3$ ) größer als  $20\text{cm}^{-1}$  ist.
- 30
14. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein notch-Filter (5, 8) zum Eliminieren von Rayleigh-Streuung verwendet wird.
- 35
15. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass im wesentlichen zeitgleich mit dem Primärlicht (3) ein Anregungslicht mit einer Wellenlänge ( $\lambda_{\text{Anr}}$ ) in das Körpergewebe (1) eingestrahlt wird, die von der Substanz absorbiert wird.
16. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Wellenlänge ( $\lambda_{\text{Anr}}$ ) des Anregungslichtes zwischen  $1,2\mu\text{m}$  und  $3\mu\text{m}$  liegt.

17. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass zum Eichen der Konzentrationsbestimmung der gesuchten Substanz die Intensität des ersten Vergleichssignals bei der wenigstens einen Abfragewellenlänge ( $\lambda_3$ ) mit einer  
5 Intensität des ersten und/oder zweiten Raman-Spektralsignals bei einer weiteren Abfragewellenlänge ( $\lambda_4$ ) verglichen wird.

18. Vorrichtung zum nicht-invasiven Bestimmen einer Konzentration einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe (1) mit Raman-Spektroskopie mit:

a) einer ersten Lichtquelle (2) zum Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht (3) einer ersten Wellenlänge ( $\lambda_1$ ) in das Körpergewebe,

b) einer Photodetektoreinrichtung (9, 11) zum Erfassen von  
15 Sekundärlicht (7), das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird,

c) einem ersten Speicher (12) zum Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts (7) in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman-Spektralsignal bei der ersten Wellenlänge ( $\lambda_1$ ),

20 d) einer zweiten Lichtquelle (13) zum Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht (3) einer zweiten Wellenlänge ( $\lambda_2$ ) in das Körpergewebe,

e) einem zweiten Speicher (19) zum Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts (7) in Abhängigkeit von der Wellenlänge als  
25 zweites Raman-Spektralsignal bei der zweiten Wellenlänge ( $\lambda_2$ ),

f) einer Komparatoreinrichtung (20) zum Vergleichen des ersten Raman-Spektralsignals in dem ersten Speicher (12) und des zweiten Raman-Spektralsignals in dem zweiten Speicher (19) miteinander und zum Erzeugen eines Vergleichssignals, bei dem  
30 spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind,

g) einer Diskriminatoreinheit (21) zum Bestimmen einer Intensität des Vergleichssignals bei wenigstens einer Abfragewellenlänge ( $\lambda_3$ ), wobei die Intensität der Konzentration der Substanz  
35 in der Körperflüssigkeit entspricht.

19. Vorrichtung zum nicht-invasiven Bestimmen einer Konzentration einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe (1) mit Raman-Spektroskopie mit:



a) einer Lichtquelle (2) zum Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht (3) einer vorgegebenen Wellenlänge ( $\lambda$ ) in das Körpergewebe,

5 b) einer Heizeinrichtung (25) zum Einstellen einer ersten Temperatur und einer zweiten Temperatur in dem Körpergewebe,

c) einer Photodetektoreinrichtung (9, 11) zum Erfassen von Sekundärlicht (7), das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird,

10 d) einem ersten Speicher (12) zum Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts (7) in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman-Spektralsignal bei der ersten Temperatur und einem zweiten Speicher (19) zum Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts (7) in Abhängigkeit von der Wellenlänge als zweites Raman-Spektralsignal bei der zweiten Temperatur,

15 e) einer Komparatoreinrichtung (20) zum Vergleichen des ersten Raman-Spektralsignals in dem ersten Speicher (12) und des zweiten Raman-Spektralsignals in dem zweiten Speicher (19) miteinander und zum Erzeugen eines Vergleichssignals, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind,  
20 im wesentlichen vollständig eliminiert sind,

f) einer Diskriminatoreinrichtung (21) zum Bestimmen einer Intensität des Vergleichssignals bei wenigstens einer Abfragemwellenlänge ( $\lambda_3$ ), wobei die Intensität der Konzentration der Substanz in der Körperflüssigkeit entspricht.

25

20. Vorrichtung zum nicht-invasiven Nachweis einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe (1) mit Raman-Spektroskopie mit:

30 a) einer ersten Lichtquelle (2) zum Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht (3) einer ersten Wellenlänge ( $\lambda_1$ ) in das Körpergewebe,

b) einer zweiten Lichtquelle (13) zum Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht (3) einer zweiten Wellenlänge ( $\lambda_2$ ) in das Körpergewebe,

35 c) einer Heizeinrichtung (25) zum Einstellen einer ersten Temperatur und einer zweiten Temperatur in dem Körpergewebe,

d) einer Photodetektoreinrichtung (9, 11) zum Erfassen von Sekundärlicht (7), das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird,

- e) einem ersten Speicher (12) zum Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts (7) in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman-Spektralsignal bei der ersten Wellenlänge ( $\lambda_1$ ) und bei der ersten Temperatur, einem zweiten Speicher (19) zum Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts (7) in Abhängigkeit von der Wellenlänge als zweites Raman-Spektralsignal bei der zweiten Wellenlänge ( $\lambda_2$ ) und bei der ersten Temperatur, einem dritten Speicher (26) zum Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts (7) in Abhängigkeit von der Wellenlänge als drittes Raman-Spektralsignal bei der ersten Wellenlänge ( $\lambda_1$ ) und bei der zweiten Temperatur und einem vierten Speicher (27) zum Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts (7) in Abhängigkeit von der Wellenlänge als viertes Raman-Spektralsignal bei der zweiten Wellenlänge ( $\lambda_2$ ) und bei der zweiten Temperatur,
- f) einer ersten Komparatoreinrichtung (20) zum Vergleichen des ersten Raman-Spektralsignals in dem ersten Speicher (12) und des zweiten Raman-Spektralsignals in dem zweiten Speicher (19) miteinander und zum Erzeugen eines ersten Vergleichssignals, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind,
- g) einer zweiten Komparatoreinrichtung (28) zum Vergleichen des dritten Raman-Spektralsignals in dem dritten Speicher (26) und des vierten Raman-Spektralsignals in dem vierten Speicher (27) miteinander und zum Erzeugen eines zweiten Vergleichssignals, bei dem spektrale Strukturen, die durch das Körpergewebe bedingt sind, im wesentlichen vollständig eliminiert sind,
- h) einer dritten Komparatoreinrichtung (29) zum Vergleichen des ersten Vergleichssignals und zweiten Vergleichssignals miteinander und zum Erzeugen eines dritten Vergleichssignals in Abhängigkeit von dem Vergleichsergebnis,
- i) einer Diskriminatoreinrichtung (21) zum Bestimmen einer Intensität des dritten Vergleichssignals bei wenigstens einer Abfragewellenlänge ( $\lambda_3$ ),
- j) einer Ausgabeeinheit (22) zum Ausgeben eines Identifikationssignals in Abhängigkeit von der Intensität bei der wenigstens einen Abfragewellenlänge ( $\lambda_3$ ).

21. Vorrichtung nach Anspruch 18 oder 19, dadurch gekennzeichnet, dass die erste (2) und/oder zweite Lichtquelle (13),

die Photodetektoreinrichtung (9, 11) und der erste (12) bzw. dritte (26) und/oder zweite bzw. vierte (27) Speicher (19) mit einer vorgegebenen Frequenz gepulst wird.

5      22. Vorrichtung nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass die vorgegebene Frequenz im Bereich von einigenkHz liegt.

10      23. Vorrichtung nach Anspruch 19 oder 20, dadurch gekennzeichnet, dass die Heizvorrichtung (25) zum Einstellen der ersten und zweiten Temperatur des Körpergewebes mit einer vorgegebenen Frequenz angesteuert wird.

15      24. Vorrichtung nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass eine Aufnahmevorrichtung zum Erfassen der Herzfrequenz vorgesehen ist und dass die vorgegebene Frequenz die Herzfrequenz ist.

20      25. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 18 bis 24, dadurch gekennzeichnet, dass die erste (2) und/oder zweite Lichtquelle (13) Pulse mit einer Pulslänge im Pikosekundenbereich erzeugt.

25      26. Vorrichtung nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass die erste (2) und/oder zweite Lichtquelle (13) ein Laser ist.

30      27. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 18 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass die erste (2) und/oder zweite Lichtquelle (13) eine Wellenlänge ( $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$ ) des Primärlichtes (3) zwischen 750nm und 850nm erzeugt.

35      28. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 18 bis 27, gekennzeichnet durch mindestens ein notch-Filter (4, 5, 8) zum Eliminieren von Rayleigh-Streuung, das zwischen der Abbildungsoptik (6) und der Photodetektoreinrichtung (9, 11) angeordnet ist.

29. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 18 bis 28, gekennzeichnet durch eine dritte Lichtquelle (24) zum Erzeugen von Anregungslicht mit einer Wellenlänge ( $\lambda_{Anr}$ ), die von der Substanz absorbiert wird.

30. Vorrichtung nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, dass die dritte Lichtquelle (24) eine Wellenlänge ( $\lambda_{\text{Anr}}$ ) zwischen  $1,2\mu\text{m}$  und  $3\mu\text{m}$  erzeugt.

5

31. Vorrichtung nach Anspruch 29 oder 30, dadurch gekennzeichnet, dass die dritte Lichtquelle (24) ein Laser für die Erzeugung von Lichtpulsen im Pikosekundenbereich ist.

10 32. Verfahren zum nicht- invasiven Nachweis einer Substanz in einer Körperflüssigkeit in einem Körpergewebe (1) mit Raman-Spektroskopie, das die Schritte umfasst:

a) Einstrahlen von monochromatischem Primärlicht (3) einer ersten Primärwellenlänge ( $\lambda_1$ ) in das Körpergewebe (1) bei einem ersten Parameterwert,

15 b) Erfassen von Sekundärlicht (7), das von dem Körpergewebe zurückgestreut wird, und Abspeichern der Intensität des Sekundärlichts in Abhängigkeit von der Wellenlänge als erstes Raman-Spektralsignal bei der ersten Primärwellenlänge ( $\lambda_1$ ) und bei dem ersten Parameterwert in einem ersten Speicher (12),

20 c) Wiederholen der Schritte a) und b) bei weiteren Primärwellenlängen und weiteren Parameterwerten, wobei die Intensität des Sekundärlichtes (7) bei jeder weiteren Primärwellenlänge und bei jedem weiteren Parameterwert in einem jeweils weiteren Speicher (26) abgespeichert wird,

25 d) multivariates statistisches Vergleichen der Raman- Spektralsignale zum Bestimmen wenigstens einer Abfragewellenlänge ( $\lambda_3$ ), bei der sich eine Intensität analog zu den Parameterwerten ändert, und

30 e) Bestimmen und Ausgeben der Intensität bei der wenigstens einen Abfragewellenlänge ( $\lambda_3$ ) in den mehreren Raman- Spektralsignalen als Funktion der Parameterwerte.

33. Verfahren nach dem vorangehenden Anspruch, bei dem der Parameter ein Blutzuckerspiegel ist.

35

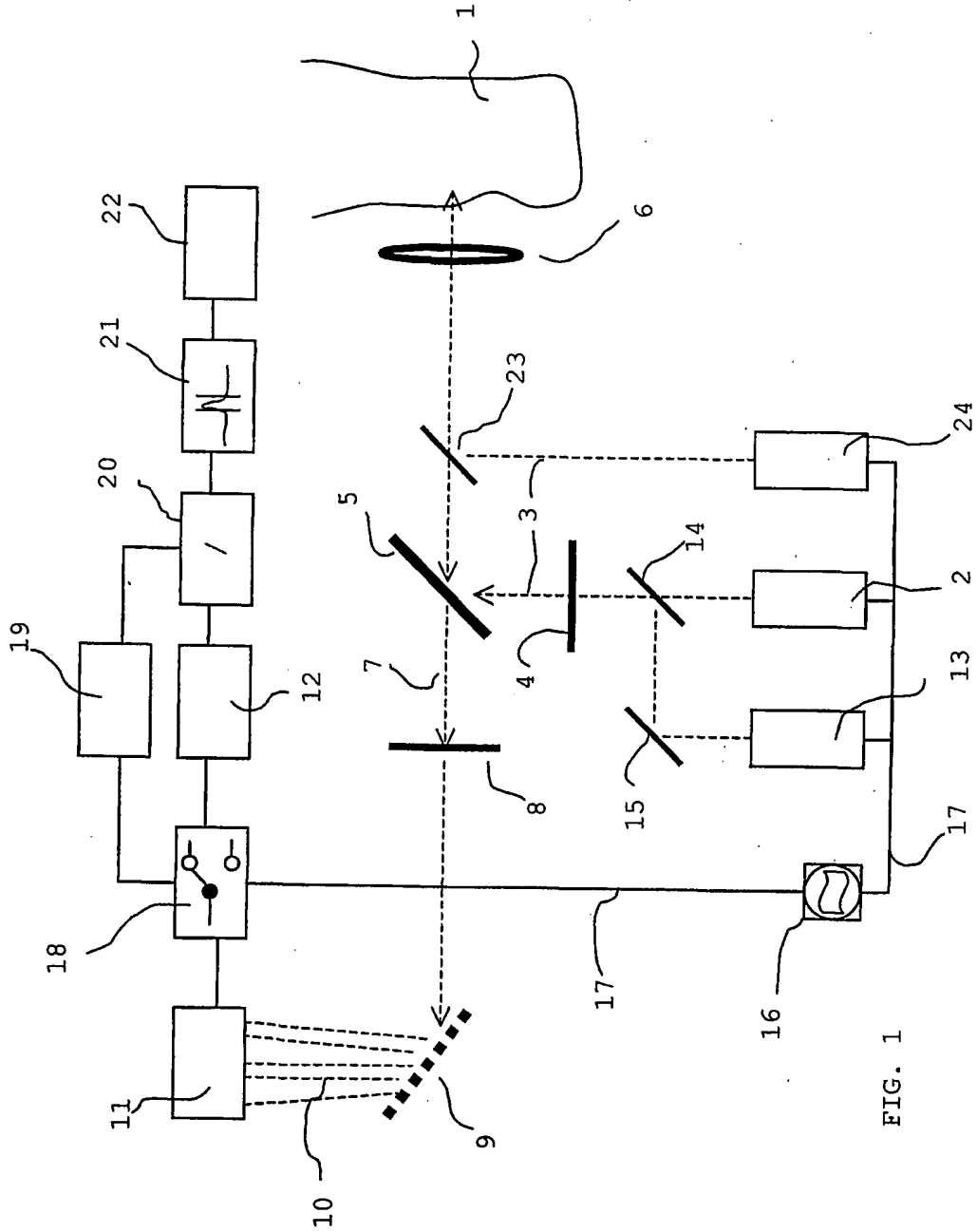


FIG. 1

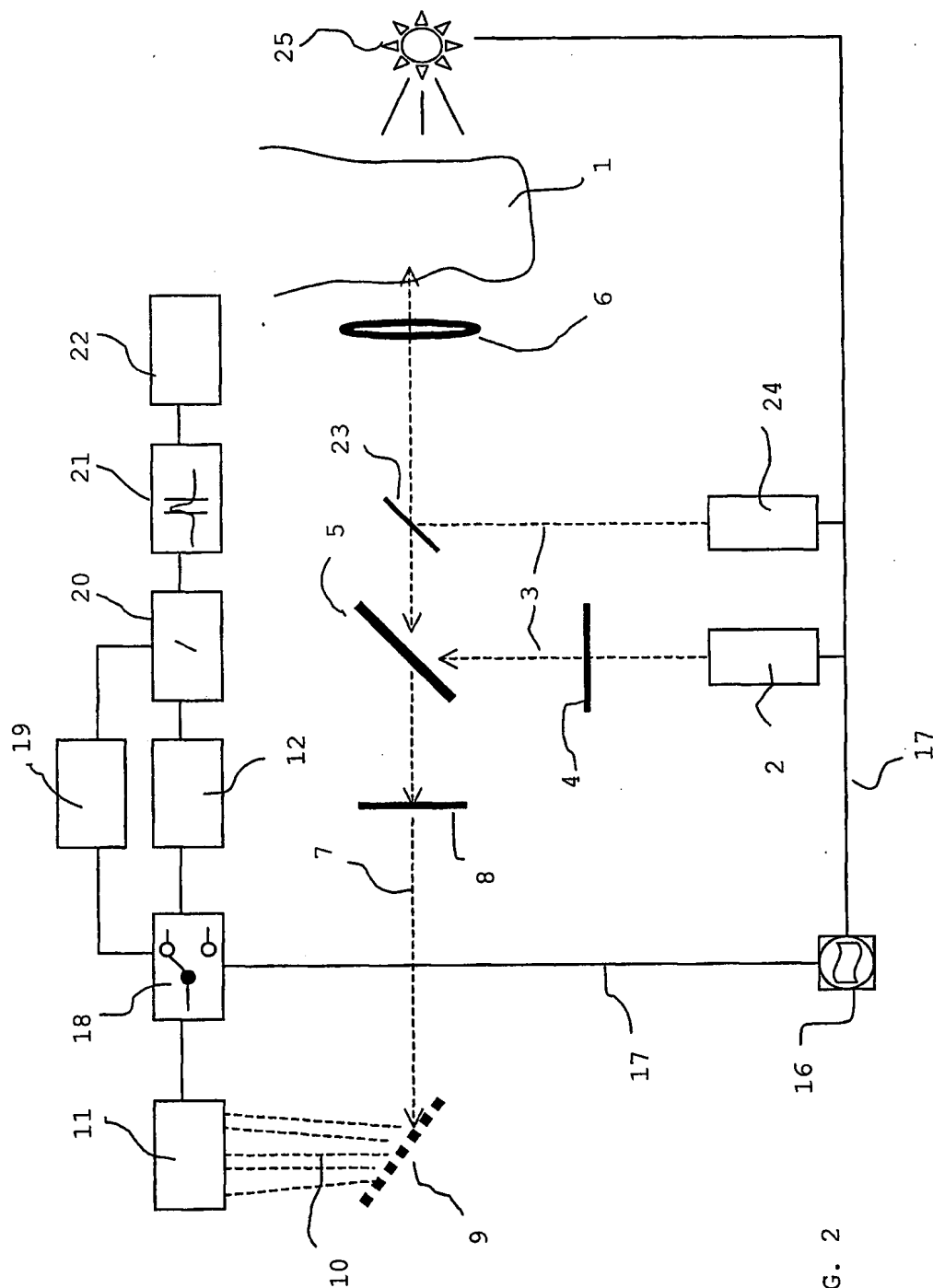


FIG. 2

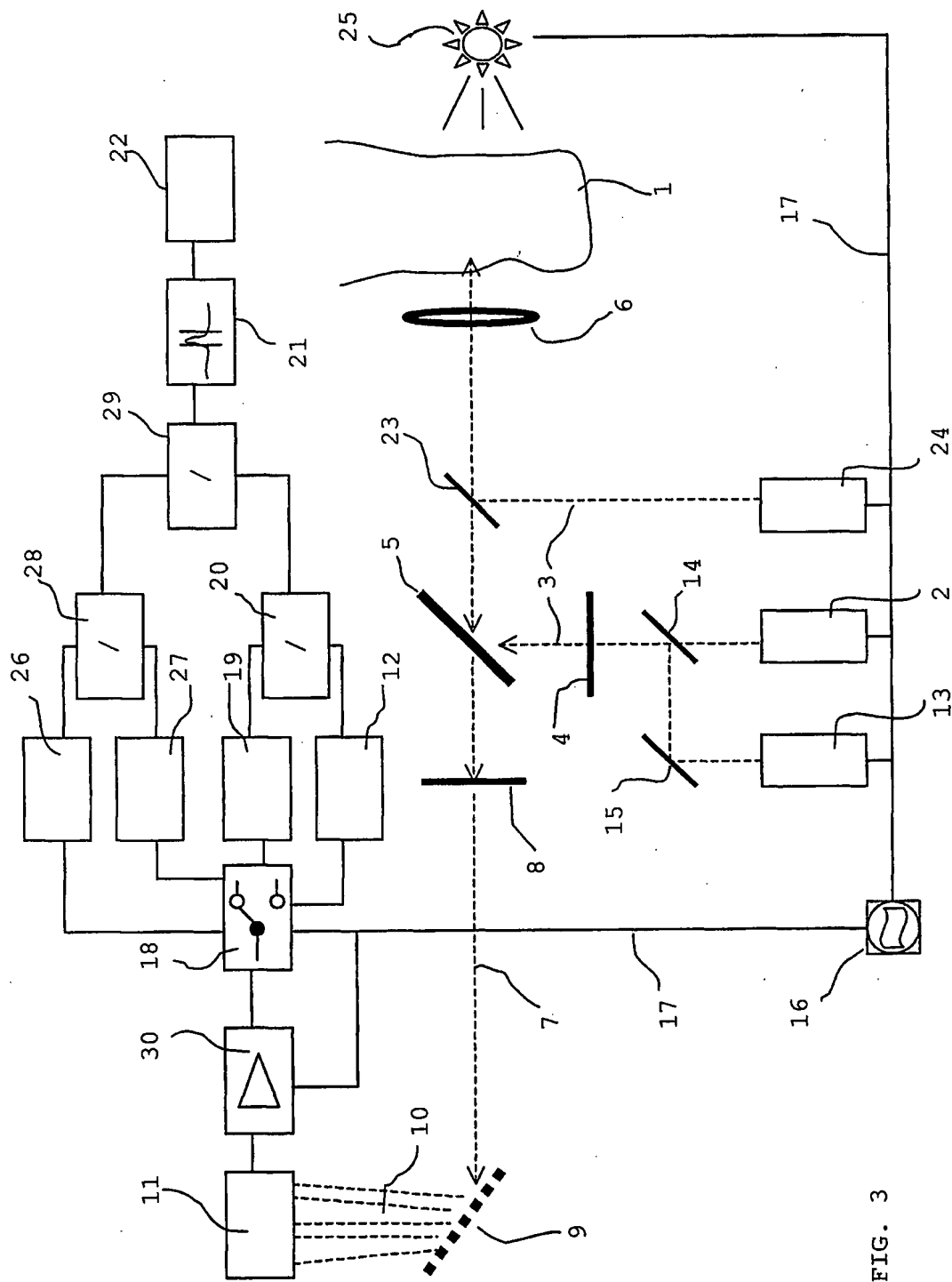


FIG. 3

FIG. 4A

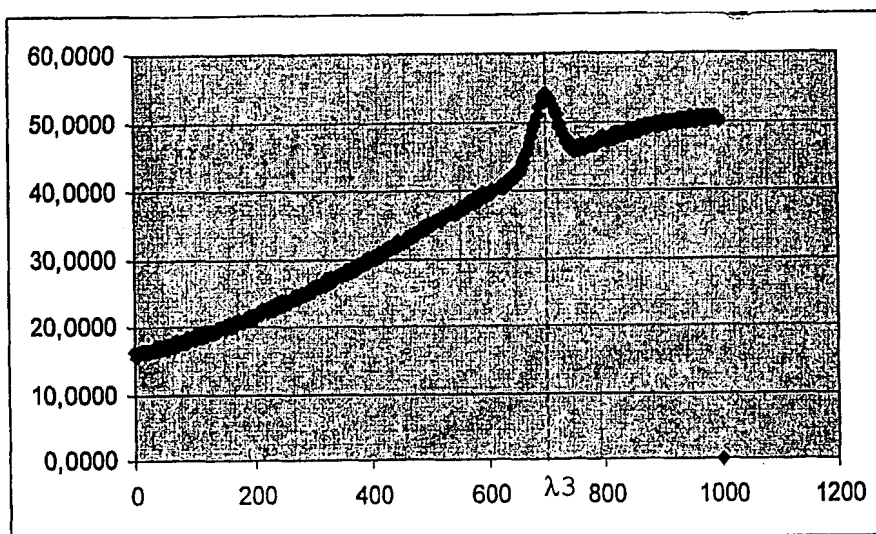


FIG. 4B

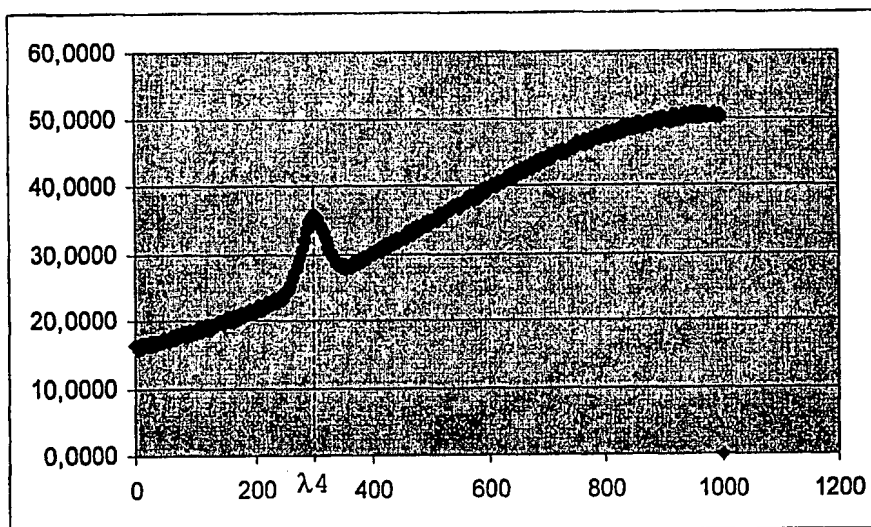


FIG. 4C

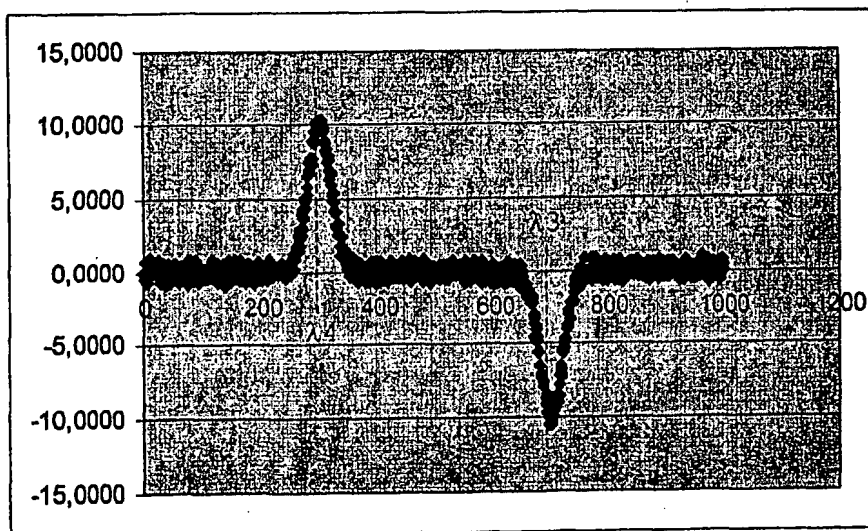




FIG. 5A

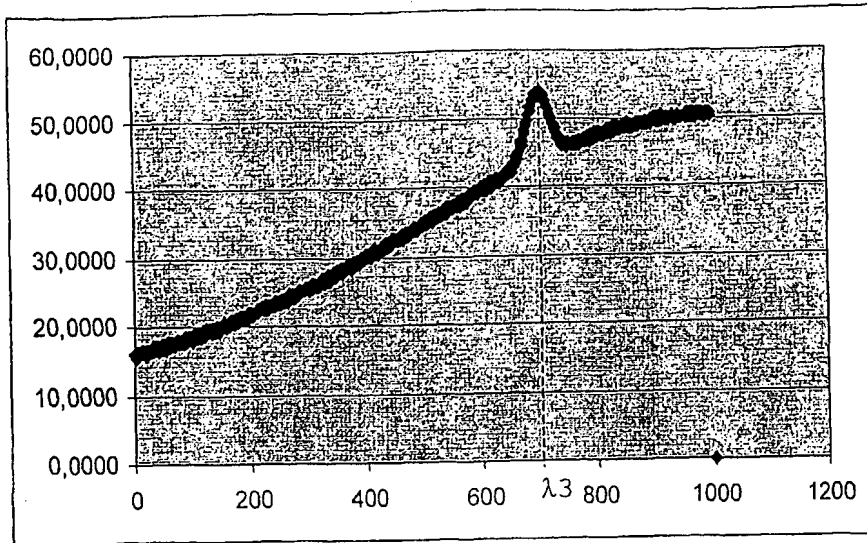


FIG. 5B

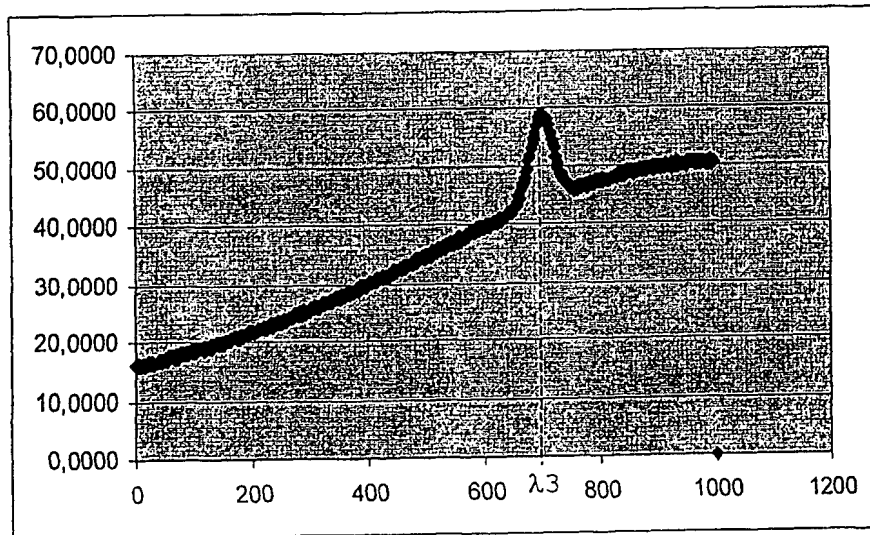
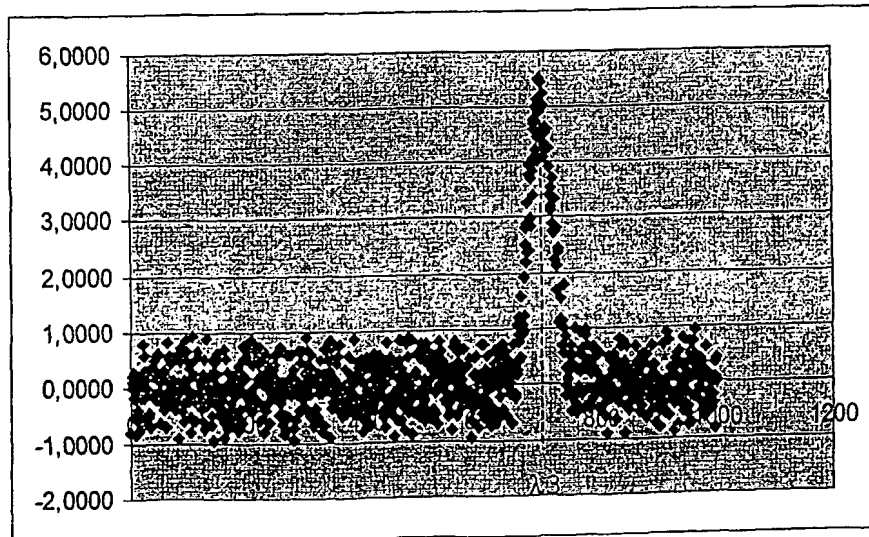


FIG. 5C



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Int. ☐ National Application No  
 PCT/DE 01/02068

 A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
 IPC 7 A61B5/00 G01N21/65

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61B G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00 02479 A (BORCHERT MARK S ; LAMBERT JAMES L (US); LOS ANGELES CHILDRENS HOSPI) 20 January 2000 (2000-01-20) abstract	18, 21, 27-29
A	page 3, line 24 -page 5, line 22 page 6, line 24 -page 8, line 9 page 9, line 25-32 page 10, line 11 -page 11, line 21 page 13, line 17-23	25
Y	WO 92 15008 A (MASSACHUSETTS INST TECHNOLOGY) 3 September 1992 (1992-09-03) page 6, line 28 -page 7, line 15 page 10, line 22-26 page 12, line 26-31 page 17, line 1, 2 page 50, line 4-31 page 52, line 29-31	18

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*G\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

1 October 2001

Date of mailing of the international search report

11/10/2001

Name and mailing address of the ISA

 European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bichlmayer, K-P

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Patent Application No  
PCT/DE 01/02068

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5 553 616 A (COHEN GLENN M ET AL) 10 September 1996 (1996-09-10)	18
A	column 7, line 18-35 column 11, line 7-30 column 12, line 15-26 column 13, line 42-60 column 14, line 11-25	19,20
A	WO 99 55222 A (LIGHTOUCH MEDICAL INC) 4 November 1999 (1999-11-04) abstract page 6, line 7-9 page 13, line 11-23 page 18, line 13-24	19,20
A	US 6 070 093 A (MCGLASHEN MICHAEL L ET AL) 30 May 2000 (2000-05-30) column 20, line 59-61	21,22
A	US 5 515 847 A (BRAIG JAMES R ET AL) 14 May 1996 (1996-05-14) column 6, line 4-10; figures 5,7	24

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 01/02068

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0002479	A	20-01-2000	AU 4986899 A EP 1093343 A1 WO 0002479 A1 US 6181957 B1	01-02-2000 25-04-2001 20-01-2000 30-01-2001
WO 9215008	A	03-09-1992	AT 198375 T CA 2104960 A1 DE 69231614 D1 DE 69231614 T2 EP 0573535 A1 JP 6505183 T WO 9215008 A1	15-01-2001 27-08-1992 01-02-2001 03-05-2001 15-12-1993 16-06-1994 03-09-1992
US 5553616	A	10-09-1996	WO 9736540 A1	09-10-1997
WO 9955222	A	04-11-1999	AU 3754899 A EP 1073366 A1 WO 9955222 A1 US 6292686 B1	16-11-1999 07-02-2001 04-11-1999 18-09-2001
US 6070093	A	30-05-2000	EP 1037554 A1 WO 9927848 A1	27-09-2000 10-06-1999
US 5515847	A	14-05-1996	US 5313941 A AU 683757 B2 AU 2555795 A CA 2189754 A1 EP 0763999 A1 JP 10501995 T WO 9531930 A1 US 5615672 A AU 675827 B2 AU 6027994 A CA 2153994 A1 EP 0682494 A1 JP 8505798 T WO 9416614 A1	24-05-1994 20-11-1997 18-12-1995 30-11-1995 26-03-1997 24-02-1998 30-11-1995 01-04-1997 20-02-1997 15-08-1994 04-08-1994 22-11-1995 25-06-1996 04-08-1994

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/DE 01/02068

<b>A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES</b> IPK 7 A61B5/00 G01N21/65		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
<b>B. RECHERCHIERTE GEBIETE</b> Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 A61B G01N		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal		
<b>C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN</b>		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 00 02479 A (BORCHERT MARK S ; LAMBERT JAMES L (US); LOS ANGELES CHILDRENS HOSPI) 20. Januar 2000 (2000-01-20)	18, 21, 27-29
A	Zusammenfassung Seite 3, Zeile 24 -Seite 5, Zeile 22 Seite 6, Zeile 24 -Seite 8, Zeile 9 Seite 9, Zeile 25-32 Seite 10, Zeile 11 -Seite 11, Zeile 21 Seite 13, Zeile 17-23	25
Y	WO 92 15008 A (MASSACHUSETTS INST TECHNOLOGY) 3. September 1992 (1992-09-03) Seite 6, Zeile 28 -Seite 7, Zeile 15 Seite 10, Zeile 22-26 Seite 12, Zeile 26-31 Seite 17, Zeile 1,2 Seite 50, Zeile 4-31 Seite 52, Zeile 29-31	18
-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
1. Oktober 2001		11/10/2001
Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter  Bichlmayer, K-P

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inti: onales Aktenzeichen

PCT/DE 01/02068

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	US 5 553 616 A (COHEN GLENN M ET AL) 10. September 1996 (1996-09-10)	18
A	Spalte 7, Zeile 18-35 Spalte 11, Zeile 7-30 Spalte 12, Zeile 15-26 Spalte 13, Zeile 42-60 Spalte 14, Zeile 11-25 ---	19,20
A	WO 99 55222 A (LIGHTOUCH MEDICAL INC) 4. November 1999 (1999-11-04) Zusammenfassung Seite 6, Zeile 7-9 Seite 13, Zeile 11-23 Seite 18, Zeile 13-24 ---	19,20
A	US 6 070 093 A (MCGLASHEN MICHAEL L ET AL) 30. Mai 2000 (2000-05-30) Spalte 20, Zeile 59-61 ---	21,22
A	US 5 515 847 A (BRAIG JAMES R ET AL) 14. Mai 1996 (1996-05-14) Spalte 6, Zeile 4-10; Abbildungen 5,7 -----	24

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 01/02068

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 0002479	A	20-01-2000	AU 4986899 A 01-02-2000
		EP 1093343 A1 25-04-2001	
		WO 0002479 A1 20-01-2000	
		US 6181957 B1 30-01-2001	
WO 9215008	A	03-09-1992	AT 198375 T 15-01-2001
		CA 2104960 A1 27-08-1992	
		DE 69231614 D1 01-02-2001	
		DE 69231614 T2 03-05-2001	
		EP 0573535 A1 15-12-1993	
		JP 6505183 T 16-06-1994	
		WO 9215008 A1 03-09-1992	
US 5553616	A	10-09-1996	WO 9736540 A1 09-10-1997
WO 9955222	A	04-11-1999	AU 3754899 A 16-11-1999
		EP 1073366 A1 07-02-2001	
		WO 9955222 A1 04-11-1999	
		US 6292686 B1 18-09-2001	
US 6070093	A	30-05-2000	EP 1037554 A1 27-09-2000
		WO 9927848 A1 10-06-1999	
US 5515847	A	14-05-1996	US 5313941 A 24-05-1994
		AU 683757 B2 20-11-1997	
		AU 2555795 A 18-12-1995	
		CA 2189754 A1 30-11-1995	
		EP 0763999 A1 26-03-1997	
		JP 10501995 T 24-02-1998	
		WO 9531930 A1 30-11-1995	
		US 5615672 A 01-04-1997	
		AU 675827 B2 20-02-1997	
		AU 6027994 A 15-08-1994	
		CA 2153994 A1 04-08-1994	
		EP 0682494 A1 22-11-1995	
		JP 8505798 T 25-06-1996	
		WO 9416614 A1 04-08-1994	